UC-NRLF
B 3 789 181

Z

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung. 79. Band

Originale

Z~~C~~ENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel,
Geh. Obermed.-Rat in Jena

Prof. Dr. R. Pfeiffer
Geh. Med.-Rat in Breslau

und

Prof. Dr. M. Braun
Geh. Reg.-Rat in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm und **Dr. A. Weber**
Geh. Reg.-Rat in Berlin — Geh. Reg.-Rat in Berlin-Lichterfelde

Erste Abteilung. 79. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie
und tierische Parasitenkunde

Originale

Mit 10 Tafeln und 77 Abbildungen im Text

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1917

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 79. Heft 1.
Ausgegeben am 19. Dezember 1916.

Nachdruck verboten.

Experimenteller Paratyphus (A und B) durch Gallenblaseninfektion.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kiel (Stellvertretender Leiter Prof. Dr. L Bitter) und dem Pathologischen Institut der Städtischen Krankenanstalten zu Kiel (Prosektor Dr. E. Emmerich).]

Von

Dr. **Gerhard Wagner,** Assist. am Hyg. Inst. und Dr. **Emil Emmerich.**

Mit 2 Tafeln und 2 Figuren im Text.

Die Erkenntnis, daß das im Verlaufe des Bauchtyphus wohl regelmäßig stattfindende Eindringen von Typhuskeimen in die Gallenblase nicht selten zu einer chronischen Infektion dieses Organs führt, ist nicht nur für die praktische Seuchenbekämpfung, sondern auch für die Immunitätsforschung und die Untersuchung der Virulenz der Bakterien von besonderer Wichtigkeit. Namentlich für die letzteren beiden Gebiete dürfte der in jüngster Zeit vielfach eingeschlagene Weg, bei Kaninchen durch Einbringung von Typhuskeimen in die Gallenblase eine dauernde Keimträgerschaft und damit ein ähnliches Krankheitsbild, wie es beim Menschen gefunden wird, zu erzielen, zur Lösung mancher vorliegender Streitfragen führen. Soweit wir die Literatur übersehen, haben sich die auf diesem Gebiete tätig gewesenen Forscher darauf beschränkt, das Bact. typhi auf diesem Wege ihren Tieren einzuverleiben. In der Epidemiologie des Bauchtyphus kommt aber den beiden nahen Verwandten des Bact. typhi, dem Bact. paratyphi A Brion-Kayser und Bact. paratyphi B Schottmüller eine nicht zu unterschätzende Bedeutung zu. Während der erstgenannte Keim in Deutschland bisher nur selten gefunden wurde, hat der Krieg mehrere kleinere Paratyphus A-Epidemien bei uns zur Beobachtung kommen lassen, die vermehrte Gelegenheit zum Studium dieses Krankheitserregers boten. Klinisch wurde von allen Autoren eine weitgehende Uebereinstimmung des Krankheitsbildes mit dem durch das Bact. typhi verursachten festgestellt, auch was die Schwere und Dauer der Erkrankung angeht; die Mortalität scheint geringer zu sein. Den epidemiologischen Fragen ist Lehmann eingehend nachgegangen und hat für die von ihm in Ulm beobachtete Epidemie festgestellt, daß sie durch einen Dauerausscheider, einen ehemaligen Fremdenlegionär, der als Koch tätig war, verursacht wurde. Die Weiterverbreitung erfolgte durch Kontaktinfektion. Wir finden also hier die gleichen Verhältnisse, wie sie die Seuchengeschichte des Abdominaltyphus in sehr zahlreichen Beispielen aufzuweisen hat. Wie aus Lehmanns ausführlichen Forschungen über die Biologie und Epidemiologie des Bact. paratyphi A hervorgeht, steht dieser Keim, abgesehen von einigen biologischen Eigentümlichkeiten, dem Bact. typhi außerordentlich nahe und spielt für die menschliche Pathologie eine ähnliche Rolle, wenn auch sein Vorkommen in unseren Breiten selten ist und auf wärmere Länder beschränkt zu sein scheint. Für die in Jochmanns Lehrbuch der Infektionskrankheiten vertretene Ansicht, daß die Uebertragung vermutlich durch Nahrungsmittel, hauptsächlich durch Milch und Wasser erfolge, sprechen die von Lehmann mitgeteilten Tatsachen nicht; noch weniger berechtigt erscheint es, den Paratyphus A-Erreger, wie Bainbridge es tut, in die Salmonella-Gruppe einreihen zu wollen. Es ist, nachdem dieser Keim nunmehr mehrfach in Deutschland und die angrenzenden Länder eingeschleppt worden ist, mit der Möglichkeit seines weiteren Vorkommens auch für die Zeit nach dem Kriege ernstlich zu rechnen, um so mehr, als, wie gesagt, die Weiterverbreitung im wesentlichen durch Dauerausscheider erfolgt.

Das Bact. paratyphi B dagegen ist bei uns sehr häufig. Trotzdem sind seine pathogenen, biologischen und epidemiologischen Eigenschaften noch keineswegs geklärt.

Folgt man der Darstellung Uhlenhuths und Hübeners in Kolle-Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, so muß man unter den durch den Paratyphus B-Bacillus hervorgerufenen Krankheitsbildern mindestens 3 Arten: die typhöse, die gastroenteritische und die choleraähnliche Form unterscheiden. Andere Autoren, z. B. Schottmüller, begnügen sich — von ganz atypischen Lokalisationen, wie z. B. Meningitis, Endometritis, Cystitis paratyphosa abgesehen — die Paratyphus B-Erkrankungen in 2 große Gruppen, den Paratyphus abdominalis mit typhusähnlichem Krankeitsbild und die Gastroenteritis (oder Cholera nostras) paratyphosa mit ganz akutem Verlauf zu unterscheiden. Neuerdings hat übrigens Stephan auch Paratyphus B-Erkrankungen beobachtet, die klinisch und pathologisch-anatomisch der Dysenterie zuzurechnen waren. Im Untersuchungsamt des Kieler Hygienischen Instituts sind in 10-jähriger Beobachtung zahlreiche Paratyphus B-Fälle zur Untersuchung gekommen. Soweit die klinischen Tatsachen hier zur Kenntnis gelangt sind, waren unter diesen Erkrankungsfällen 2 scharf abgegrenzte Gruppen zu erkennen: einmal die in gewissen Gegenden von Zeit zu Zeit wieder auftretenden, manchmal auch gehäuften, typhusähnlichen Erkrankungen, die bis auf den leichteren Verlauf keinerlei Abweichungen gegenüber dem Bauchtyphus erkennen ließen, und zweitens die stets explosionsartig in eng umschriebenen Bezirken ausbrechenden, regelmäßig auf Nahrungsmittel zurückgeführten, brechdurchfallartigen Krankheitsbilder. Während also diese Beobachtungen mit der oben erwähnten klinischen Systematik sich in Uebereinstimmung befinden, stehen wir hinsichtlich der Aetiologie auf einem insofern abweichenden Standpunkte, als wir die Erreger dieser beiden Krankheitsbilder für biologisch mit Sicherheit unterscheidbar halten. Wie an anderer Stelle bereits mehrfach dargelegt ist, beziehen sich die Unterschiede auf die Wallbildung, d. h. schleimiges Randwachstum bei Zimmerwärme bei anfänglichem zarten Wachstum im Brutschrank, Knopfbildung auf Raffinoseagar nach Reiner Müller und Pathogenität für Mäuse im Fütterungsversuch (B. Fischer). Letztere zeigen nur die Erreger der gastroenteritischen Form — als Bact. enteritidis Kaensche oder Breslau bezeichnet — während Wall- und Raffinose-Knopfbildung sich nur bei dem Erreger der typhusartigen Erkrankung — Bact. paratyphi B im engeren Sinne — finden¹). Diese Unterscheidungsmerkmale haben sich als konstant bewährt; es soll aber natürlich nicht

---

1) Ganz neuerdings hat auch Selter auf Grund von Agglutinationsversuchen mit monovalenten hochwertigen Seren eine Trennung der Paratyphusgruppe in 2 **Typen:** Paratyphus B Schottmüller und Bacillus Breslaviensis befürwortet.

geleugnet werden, daß zwischen den beiden Arten eine sehr enge Verwandtschaft besteht. Ja, es muß vielleicht sogar mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß der eine Typus in den anderen übergeht. Man könnte das daraus schließen, daß die eigentlichen Paratyphus B-Stämme nach Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden, die Neigung zeigen, ihre Wallbildungsfähigkeit mehr oder weniger schnell aufzugeben: Es entstehen in den einzelnen Kolonien zunächst wallose Sektoren, aus denen sich nur wallfreie Kolonien züchten lassen, während die Abkömmlinge aus den noch Schleimwälle bildenden Kolonieteilen die Wallbildung mindestens zum Teil noch aufweisen. Fig. 1 zeigt diesen Vorgang an einem lange Zeit beobachteten Paratyphus B-Stamm, bei ungefähr 5facher Vergrößerung im schrägdurchfallenden Licht aufgenommen. Ein ähnliches Bild hat Reiner Müller vor einigen Jahren bereits als Beispiel für Sektorenmutation in der Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre veröffentlicht. Dieser Autor gibt ferner an, daß Para B-Keime, die ihre Wallbildungsfähigkeit verloren hatten, doch noch Knöpfe auf Raffinoseagar bildeten und auch im Mäusefütterungsversuch unwirksam blieben. Es würde danach also nur eine der genannten 3 Eigenschaften leicht verloren gehen, eine völlige Umwandlung des einen in den anderen Typus nicht stattgefunden haben.

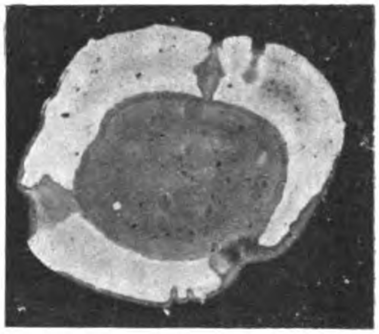


Fig. 1. Kolonie eines älteren Paratyphus B-Stammes: Wallbildung und wallfreie Randpartie. Vergr. 1:5. Schräg durchfallendes Licht.

Ebenso mannigfaltig wie die menschenpathogenen Eigenschaften des Paratyphus B-Bakteriums scheinen auch die Möglichkeiten für seine Uebertragung zu sein. Zunächst kommt hierfür, ebenso wie beim Bact. typhi, der erkrankte Mensch in Betracht, und zwar auch hier — nach der Analogie des Abdominaltyphus — der dauernd infizierte, der Dauerausscheider. Nach den in der Literatur mitgeteilten, nicht allzu zahlreichen Autopsiebefunden (Forster, Evers und Mühlens, Lorey, Küster und Günzler) ist es wahrscheinlich, daß es sich auch bei der Paratyphus B-Keimträgerschaft um eine dauernde Ansiedlung der Keime in der Gallenblase handelt. Für die Frage der Trennung der oben erwähnten Typen des Paratyphus B-Bakteriums erscheint der von Uhlenhuth und Hübener erwähnte Umstand beachtlich, daß von fast allen Autoren die Seltenheit der Dauerausscheider nach akuten Nahrungsmittelvergiftungen betont wird.

Daneben aber kommt der Paratyphus B-Keim — allgemein gesprochen — ganz im Gegensatz zum Bact. typhi, auch als Erreger tierischer Krankheiten vor. Die große Mehrzahl der in Kiel beobachteten, durch das Bact. enteritidis Kaensche verursachten Enteritisfälle konnte auf Genuß ungekochten oder nicht genügend gekochten, vielfach aus Notschlachtungen stammenden Fleisches mit Sicherheit zurückgeführt werden.

Weiterhin muß mit der, namentlich von Uhlenhuth angenommenen, neuerdings vielfach, z. B. von Aumann, bestrittenen Ubiquität der Paratyphusbakterien gerechnet werden. Die Keime führen nach dieser Anschauung ein saprophytisches Dasein im Körper gesunder Tiere und Menschen, um gelegentlich plötzlich virulent zu werden.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Schließlich ist auch noch die Möglichkeit eines Entstehens der Paratyphuskeime aus Typhuskeimen durch Umwandlung („Mutation") zu erwähnen. Eine solche ist in einem Falle von **Reiner Müller** bei aus dem Blute eines Kranken gezüchteten Typhuskolonien beobachtet worden; mehrfach festgestelltes gleichzeitiges Vorkommen von Typhus- und Paratyphus B-Keimen im Blute Erkrankter — wie die Beobachtung einiger eigentümlicher Zwischenstufen in Gestalt „gasloser" Paratyphusstämme[1]) (**Oette, Ohno**), die von **Wagner** gleichzeitig mit Typhus- und fast gleichzeitig mit regelrechten Paratyphus B-Keimen aus Krankenblut isoliert wurden, während **Löwenthal** und **Seligmann** sie sogar mutationsartig aus einer älteren, regelrechten Paratyphus B-Kultur entstehen sahen, lassen eine solche Wandlungsfähigkeit als denkbar erscheinen. **B. Fischer** und neuerdings **Köhlisch** haben sich denn auch für die Möglichkeit der Entstehung des Paratyphuskeimes aus dem Bact. typhi ausgesprochen, und **Marmorek** berichtet in allerjüngster Zeit über Umwandlung von Typhuskeimen in Paratyphuskeime durch Tierpassage.

Auch wenn man sich der letztbesprochenen Frage gegenüber ablehnend verhält, wird man doch zugestehen müssen, daß der Paratyphus B-Keim — vorausgesetzt, daß man von ihm nicht bestimmte Abarten, wie z. B. Bact. enteritidis Breslau (**Kaensche**) abtrennen will — sowohl in seiner Pathogenität als auch in seinen biologischen Eigenschaften ein sehr vielgestaltiges Bild bietet, während das Paratyphus A-Bakterium — entsprechend dem Bact. typhi — demgegenüber ein viel einheitlicheres Gepräge zeigt.

Will man diesen Fragen experimentell nachgehen, so bietet sich nach Analogie der Infektion von Kaninchen mit Typhuskeimen durch Einspritzung der Bakterienkeime in die Gallenblase, über die zahlreiche Berichte vorliegen (**Uhlenhuth** und **Messerschmidt**, **Hailer** und **Ungermann**, **Lange** und **Roos**, **Emmerich** und **Wagner**) der gleiche Weg für Paratyphusbakterien, der unseres Wissens bisher noch nicht beschritten wurde.

I. Technik.

Wir bedienten uns im wesentlichen der gleichen Technik, wie wir sie bei früheren Versuchen mit Typhuskeimen zur Anwendung gebracht und seinerzeit in der Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie eingehend beschrieben haben.

Eine Abweichung ergab sich, zunächst mit Rücksicht auf die durch die Zeitumstände gebotene Sparsamkeit, insofern, als wir nur zum kleineren Teil unserer Versuche Kaninchen benutzten, im übrigen aber Meerschweinchen heranzogen. Diese haben eine verhältnismäßig größere Gallenblase als Kaninchen, so daß die geringere Größe des Versuchstieres die Operation nicht nennenswert erschwert. Legt man den Bauchschnitt ziemlich hoch — etwa $^1/_2$ cm unter dem Rippenbogen verlaufend — an, so stellt sich in der Regel der obere Pol der Gallenblase ohne weiteres in die Schnittwunde ein; ein leichter Druck auf die Lebergegend läßt die Gallenblase dann zum größeren Teile hervortreten, so daß die Injektion der Keime vorgenommen werden kann, ohne daß ein Herausziehen der Leber mit der anhaftenden Gallenblase nötig wird; letzteres ist bei Kaninchen meist nötig. Auch **Marmorek** hat für seine

---

1) Auch der von Standfuß sowie Joest beschriebene Ferkeltyphusbacillus scheint zu den gaslosen Paratyphusstämmen zu gehören.

Infektionsversuche mit Typhusbakterien Meerschweinchen benutzt und dabei technisch gute Erfolge gehabt.

Bei Versuchen mit Paratyphusbakterien, wenigstens vom Typus B, ist, mit Rücksicht auf ihre Giftigkeit für Versuchstiere bei parenteraler Einverleibung, die erheblich höher ist als die der Typhuskeime, besonderes Gewicht darauf zu legen, daß bei der Injektion der Gallenblase eine gleichzeitigen Infektion der Bauchhöhle vermieden wird. Wir glauben, dieser Forderung dadurch soweit wie möglich nachgekommen zu sein, daß wir nach losem Anlegen einer Katgutschlinge die Kanüle einer 1 ccm Rekordspritze ziemlich tief in die Blase einführten, die Einstichstelle nebst der Kanüle mit einer anatomischen Pinzette faßten, dann 1 ccm Galle ansaugten, die Spritze abzogen, ohne die Kanüle zu entfernen, die Galle ausspritzten und dann $^1/_2$ ccm der nach Wunsch verdünnten Bakterienaufschwemmung einspritzten. Da also ein Minus von $^1/_2$ ccm entsteht, bleibt der obere Teil der Gallenblase leer, so daß beim nunmehrigen Zusammenschnüren der Katgutschlinge und vorsichtigem Herausziehen der Kanüle denkbar wenig Keime in die Bauchhöhle hineingelangen. Die beigefügte, halbschematische Skizze (Fig. 2) soll diesen Vorgang veranschaulichen. Ist vom operativen Standpunkte aus also demnach das Meerschweinchen für diese Versuche zum mindesten ebensosehr geeignet wie das Kaninchen, so sind uns im Verlaufe unserer Untersuchung doch Zweifel entstanden, ob die Empfänglichkeit der Gallenblase als Ansiedlungsort für Keime, die beim Kaninchen für Typhusbakterien bei zahlreichen Versuchen festgestellt ist, bei Meerschweinchen die gleicheist. Jedenfalls scheint die Steinbildung in der Meeerschweinchengallenblase nicht so schnell oder vielleicht überhaupt nicht einzutreten, im Gegensatz zur Kaninchengallenblase. Vergleichende Versuche in dieser Hinsicht anzustellen, ist uns zurzeit aus äußeren Gründen unmöglich.

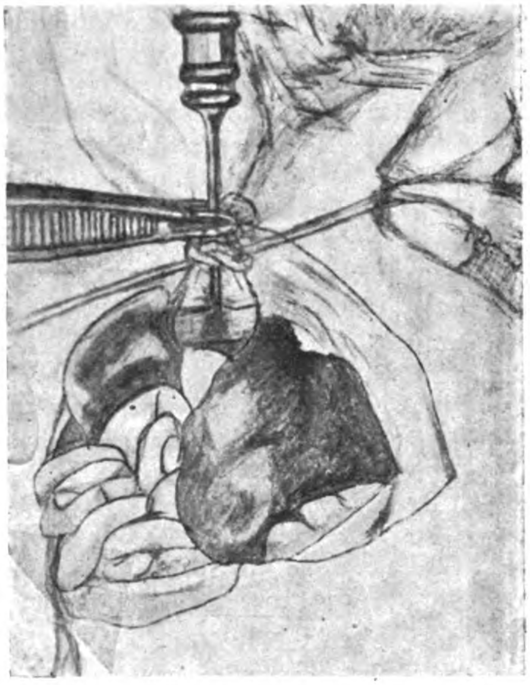


Fig. 2. Operationstechnik bei Injektion von Keimen in die Gallenblase eines Meerschweinchens. Halbschematische Skizze.

II. Versuche mit Bact. paratyphi A.

Zunächst wurden die Kaninchen 123 und 127 in der beschriebenen Weise infiziert, und zwar mit den Stämmen Troppau I (1 Normalöse) bzw. Ulm I [$^1/_8$ Oese] (1). Beide Tiere überstanden die Operation gut und zeigten niemals Krankheitserscheinungen. Die fast täglich vorgenommene Stuhluntersuchung — es wurden einige Kotballen in Rindergalle 24 Stunden bebrütet und sodann mehrere Oesen auf Chinablau-

---

1) Die Stämme entstammten den in Ulm bzw. Troppau beobachteten Epidemien. Wir sind den Herren Prof. Dr. **Lehmann** und Privatdozent Dr. **Materna** für die liebenswürdige Uebersendung derselben zu besonderem Danke verpflichtet.

milchzuckermalachitgrünagar (nach L. Bitter) ausgesät — ergab folgende Resultate: Bei Tier 123 wurden am 2., 3., 7. und 8. Tage nach der Infektion die Paratyphus A-Keime gefunden; seitdem nicht mehr, obwohl die Untersuchungen mehr als 100 Tage fortgesetzt wurden. Die Bakterien sind in diesem Falle also wohl nicht zu einer dauernden Ansiedelung in der Gallenblase gelangt. Immerhin glauben wir, daß die in die Gallenblase gespritzten Keime nicht etwa nur unverzüglich wieder ausgeschwemmt wurden, sondern daß eine, wenn auch rasch vorübergehende, Infektion des Gesamtorganismus stattgefunden hat. Wir fanden nämlich noch fast 2 Monate nach der Infektion eine positive Widalsche Reaktion im Blute in der Höhe von mindestens 1 : 2000. Da man bei einmaliger intravenöser Injektion einer Oese der Keime nach so langer Zeit wohl kaum eine Agglutination von dieser Stärke antreffen würde, so erscheint es wahrscheinlich, daß die Keime sich längere Zeit im Körper aufgehalten und zur Bildung von Antikörpern Veranlassung gegeben haben. Die 3½ Monate nach der Operation vorgenommene Sektion des Tieres (nach Tötung durch Nackenschlag) bestätigte diese Auffassung, insofern einerseits weder aus der Gallenblase, noch aus anderen Organen, die sämtlich untersucht wurden, Keime gezüchtet werden konnten, andererseits aber Reste der abgelaufenen Infektion in Gestalt von bis Erbsengröße geschwollenen, grauschwärzlich verfärbten Mesenterialdrüsen sowie einzelnen stecknadelkopfgroßen, gelblichen Knötchen der Milz, die mikroskopisch als hochgradige Follikelschwellung festgestellt wurden, sich vorfanden. Eine genauere Untersuchung der histologischen Veränderungen bleibt einem späteren Zeitpunkt vorbehalten.

Bei Tier 127 dagegen war die Bacillenträgerschaft von längerer Dauer. Die Stuhluntersuchung hatte positive Ergebnisse am 2., 11., 14., 16., 17., 18., 19., 20., 21., 34., 35., 36., 39., 40., 48., 49., 61., 62., 74. Tage nach der Operation. Am 95. Tage erfolgte die Tötung und Obduktion. Es wurden also bei dem Tiere während 94-tägiger Beobachtung 19mal Paratyphus A-Keime im Stuhle gefunden, sodaß man es wohl als Dauerausscheider betrachten darf. Unsere, an anderer Stelle dargelegten Erfahrungen mit Typhuskeime tragenden Kaninchen lassen die Vermutung zu, daß nach so langer Zeit eine Spontanheilung kaum mehr eingetreten wäre, daß vielmehr, genau so wie beim Menschen bei anscheinend völliger Gesundheit, eine mehr oder weniger häufige Ausscheidung der Krankheitskeime auch weiterhin erfolgt wäre. Zwei in gleicher Weise infizierte Typhusbakterien beherbergende Kaninchen beobachten wir nunmehr schon 1½ Jahre, ohne daß die Tiere irgendwelche Krankheitszeichen erkennen ließen. Das Obduktionsergebnis dieses Tieres (127) lautet im Auszug wiedergegeben, folgendermaßen:

Sehr guter Ernährungszustand. Leber mit der Bauchwand verwachsen. Mesenterialdrüsen geschwollen, bis kirschkerngroß, grauschwärzlich. Milz makroskopisch unverändert. Leber, bis auf ein wenig verdächtiges Knötchen, unverändert. Gallenblase vollständig von der Leber umwachsen; im Innern eingedickter Eiter, außerdem zahlreiche, grauschwarze, bis über hirsekorngroße, noch weiche Konkremente; Wand verdickt, Blase geschrumpft.

Die bakteriologische Untersuchung ergab Vorhandensein von Paratyphus A-Keimen in der Gallenblase — in großer Zahl —, sowie im Dünn- und Dickdarm, in der Leber und in der rechten Niere. Im Mastdarm, im Harn, im Mageninhalt, den Mesenterialdrüsen, der linken Niere, den beiden Lungen, dem Herzblute und dem Knochenmarke konnten keine Keime nachgewiesen werden.

Aus diesem Befund heben sich 2 Tatsachen als bemerkenswert heraus:

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

1. Der pathologisch-anatomische Befund in der Gallenblase: Eitrige Cholecystitis mit beginnender Gallensteinbildung. Die beigefügte Taf. I Fig. 1 zeigt in etwa anderthalbfacher Vergrößerung die aufgeschnittene, stark geschrumpfte Gallenblase, in ihrem Innern kleinere Konkremente und daneben, auf der Schnittfläche der Leber liegend, 4 verhältnismäßig große Steine. Taf. I Fig 2 zeigt ferner einen 15-fach vergrößerten Schnitt durch die Wand dieser Gallenblase; die starke adenomatöse Wucherung der Schleimhaut ist ein Zeichen der chronischen Entzündung. Also, ebenso wie das Bact. typhi, vermag das Bact. paratyphi A in der Gallenblase von Kaninchen ein chronisches — beim menschlichen Typhuskeimträger wohlbekanntes — Krankheitsbild hervorzurufen. Sektionsbefunde von menschlichen Paratyphus A-Bacillenträgern liegen erklärlicherweise noch nicht vor, sind doch die bisher bekannten von Typhus-Bacillenträgern spärlich genug. Man wird geneigt sein, das Ergebnis des Tierexperiments auch auf die menschliche Pathologie zu übertragen und bei den menschlichen Paratyphus A-Dauerausscheidern die gleiche Erkrankung anzunehmen wie bei Typhusträgern.

Der histologische Befund in der Leber zeigt, im Gegensatz zu den später zu besprechenden Paratyphus B-Tieren, außer einer starken, kleinzelligen Infiltration im interacinösen Bindegewebe (Taf. I Fig. 3. Vergrößerung 1:40) nichts von der Norm Abweichendes. Damit ergibt sich für den Paratyphus A-Keim eine Parallele zum Bact. typhi, denn die von Joseph Koch und Chiarolanza untersuchten Lebern von typhuskeimtragenden Kaninchen zeigen genau das gleiche Bild, und ebenso entspricht die Cholecystitis und Cholelithiasis völlig den von uns kürzlich im Centralbl. f. Pathol. geschilderten Veränderungen der Gallenblasen unserer Kaninchen-Typhusdauerausscheider.

2. Auch der bakteriologische Befund zeigt weitgehende Uebereinstimmung mit den menschlichen und tierischen Typhuskeimträgern: Große Mengen von Paratyphus A-Keimen in der Gallenblase, deren Inhalt einen günstigen Nährboden abgibt und deren abgeschlossene Höhle — vielleicht infolge der entzündlichen Veränderung ihrer Wand — die Keime dem Angriff der Immunkörper entzieht. Aber nicht nur in der Gallenblase und dem mit ihr in Verbindung stehenden Darm, sondern auch in der benachbarten Leber und in der rechten Niere gelang der kulturelle Nachweis. Das Vegetieren der Keime in inneren Organen ist, wie eine von uns kürzlich in der „Med. Klinik" mitgeteilte Zusammenstellung zeigte, auch beim Typhuskeimträger häufig zu beobachten. Also auch hier eine bemerkenswerte Uebereinstimmung der Typhus- und Paratyphus A-Keime in ihrem Verhalten dem chronisch infizierten Organismus gegenüber.

Zwei weitere derartige Versuche stellten wir mit Meerschweinchen (135 und 136) an. Das erstgenannte Tier erhielt eine $^1/_{20}$ Oese des Stammes Troppau I, in die Gallenblase gespritzt. Wir stellten am 1., 3., 4., 5., 12., 13., 14., 15. und 21. Tage die Ausscheidung von Keimen fest, hatten dann aber bis zu der nach 82 Tagen vorgenommenen Tötung und Obduktion keinen Erfolg mehr. Wir fanden hier eine mäßige Schrumpfung der Gallenblase und Verdickung ihrer Wand; ihr Inhalt war blaßgrünlich, dünnflüssig. Die Organe waren, bis auf kleinerbsengroße Mesenterialdrüsen, frei von pathologischen Veränderungen. Bakteriologisch fanden sich nirgends mehr — auch in der Gallenblase nicht — Paratyphus A-Keime. Also ist hier eine Ausheilung nach etwa 3- bis 4-wöchiger Keimträgerschaft anzunehmen.

Das andere Tier beherbergte die ihm eingespritzten Bakterien — eine $^1/_{20}$ Oese des Stammes Ulm III — beträchtlich längere Zeit. Wir stellten sie am 1., 2., 5., 7., 8., 12., 16., 22., 23., 28., 29., 33., 36., 37., 39., 40., 41., 42., 43. und 44. Tage fest. Dann setzte die Ausscheidung aus. Am 85. Tage erfolgte die Tötung und Sektion. Auch hier sprach der Obduktionsbefund, Schrumpfung der Gallenblase mit Wandverdickung, Vergrößerung der Mesenterialdrüsen sowie Follikelschwellung der Milz, für eine abgelaufene Infektion. Der negative bakteriologische Befund bestätigte das.

Bei 2 Meerschweinchen ist es uns also nicht gelungen, eine chronische Paratyphus A-Bacillenträgerschaft hervorzurufen, obwohl die Keime eine ziemlich beträchtliche Zeit — im letzten Falle fast anderhalb Monate — im Körper, und zwar doch wohl in der Gallenblase, sich hielten und von hier aus, wie der pathologisch-anatomische Befund zeigt, vermutlich zu einer vorübergehenden Allgemeininfektion Veranlassung gaben; wir möchten das wenigstens aus der Vergrößerung der Mesenterialdrüsen und aus der Follikelschwellung der Milz schließen. Angesichts des oben mitgeteilten Befundes bei dem Kaninchen 127 glauben wir, der Vermutung Raum geben zu sollen, daß die Meerschweinchengallenblase für eine dauernde Ansiedlung von Keimen nicht die gleiche Empfänglichkeit zeigt, wie die von Kaninchen und Menschen. Zwar haben andere Forscher (Weinfurter, Marmorek) für ihre Experimente mit Typhusbakterien sich auch des Meerschweinchens bedient, doch ist es auch bei ihren Versuchen niemals zu einer Daueransiedlung von Typhuskeimen in der Gallenblase gekommen, die allerdings wohl auch nicht in den Kreis ihrer Beobachtungen gezogen wurde. Indessen wird diese Frage noch in größeren Versuchsreihen nachzuprüfen sein.

Hervorzuheben ist — mit Rücksicht auf die weiterhin zu schildernden Versuche mit Paratyphus B-Keimen —, daß irgendwelche akute Krankheitszeichen weder bei den Kaninchen, noch bei den Meerschweinchen zu beobachten waren. Der Paratyphus A-Keim ist also für diese Tiere — auch bei Einspritzung in die Gallenblase — ebenso verhältnismäßig avirulent, wie wir das von Typhusbakterien wissen.

III. Versuche mit Bact. paratyphi B.

Angesichts der Vielgestaltigkeit der klinischen, biologischen und epidemiologischen Tatsachen, die, wie eingangs dargelegt, mit den Angehörigen der Paratyphus B-Gruppe verknüpft sind, schien es uns geboten, bei der Auswahl der für unsere Versuche bestimmten Stämme uns zunächst auf einen bestimmten Typus zu beschränken. Wir wählten, da unsere Versuche eine Fortsetzung unserer früheren, ähnlichen Arbeiten mit Typhusbakterien darstellen und weiterhin einen Vergleich mit den Eigenschaften des Paratyphus A-Bakteriums anstreben, nur Paratyphus B-Stämme von solchen Erkrankungen, die klinisch durchaus unter dem Bilde des Typhus abdominalis verlaufen waren; sie waren im Kieler Untersuchungsamte vor nicht allzu langer Zeit aus Proben gezüchtet, die mit der Diagnose „Unterleibstyphus“ zur Untersuchung aus der Provinz Schleswig Holstein eingesandt waren. Die Stämme hatten denn auch bei ihrer Erstzüchtung die charakteristische Schleimwallbildung gezeigt, waren also als Bact. paratyphi B im engeren Sinne anzusehen und gehörten keinesfalls zur Gruppe der Fleischvergifter. Mit Ausnahme des Stammes 1459, der 3 Tage vor dem Versuch aus einer vom 14. Krankheitstage stammenden Stuhlprobe eines ebenfalls unter der

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

klinischen Diagnose „Unterleibstyphus“ Erkrankten isoliert wurde, waren sie in Blutproben, die während der ersten Krankheitswoche bei hohen Fiebertemperaturen entnommen waren, gefunden worden. Es handelt sich also durchweg um Stämme, die klinisch eine durchaus typhöse Erkrankung beim Menschen hervorgerufen hatten. Besonders hervorzuheben wäre, daß 2 der Stämme, 4962 und 4970, dem Blut zweier Kranken entstammten, die einer kleinen Epidemie zuzurechnen waren, die als eine gemischte Typhus- und Paratyphus B-Epidemie besonderes Interesse verdient. Es handelt sich um etwa 10 Fälle; bei 7 von ihnen wurde die Diagnose Typhus durch Züchtung aus dem Blute sichergestellt, bei einem weiteren wurden Typhus- und Paratyphus B-Keime aus dem Blut isoliert, während im Stuhlgang nur Typhuskeime gefunden wurden'; in den übrigen beiden Fällen wurden die erwähnten beiden Paratyphus B-Stämme im Blute festgestellt.

Gleichzeitiges Vorkommen von Typhus- und Paratyphuskeimen im Blute, das für die Möglichkeit der Entstehung der einen Bakterienart aus der anderen als Beweis herangezogen worden ist, ist im Kieler Untersuchungsamte nicht ganz selten beobachtet worden, während sonst in der Literatur unseres Wissens Angaben über gleichartige Beobachtungen nicht enthalten sind. Wagner hat in dieser Zeitschrift (Abt. I. Orig. Bd. 71. p. 28) 6 solcher Fälle, von denen 2 von Beckers, bzw. L. Bitter näher beschrieben worden sind, mitgeteilt; inzwischen sind noch einige weitere, zuletzt der oben erwähnte, der durch seine Zugehörigkeit zu einer Mischepidemie besonders interessant ist, hinzugekommen.

Bei der bekannten Giftigkeit der Paratyphus B-Stämme für Tiere war die Bemessung der in die Gallenblase einzuspritzenden Bakterienmengen, auch wenn ein Uebertritt in die Bauchhöhle durch die oben beschriebenen Maßnahmen tunlichst vermieden wurde, schwierig. Es mußte auch mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß die Verschiedenheit der beim Menschen durch Paratyphus B-Keime, allgemein gesprochen, verursachten Krankheitsbilder auf quantitativen Unterschieden in der Infektion beruhte; z. B. wäre es immerhin denkbar, daß die choleraartige Erkrankung eine Masseninfektion mit Keimen, z. B. durch Genuß notgeschlachteten Fleisches, zur Ursache hätte, während die typhoide Form aus einer Kontaktinfektion mit spärlichen Krankheitserregern herv orginge. Wir haben solchen Möglichkeiten in der Weise Rechnung getragen, daß wir die meisten Stämme sowohl in einer größeren, etwa der Dosis letalis minima für intraperitoneale Einspritzungen entsprechenden, als auch einer kleineren, wesentlich unter dieser Grenze sich haltenden Menge unseren Tieren einverleibten. Irgendwelche Unterschiede haben sich aber, wie gleich vorausgeschickt sei, daraus nicht ergeben.

Zunächst wurden wiederum 2 Kaninchen in der geschilderten Weise operiert, und zwar wurden dem Tiere 128 $^1/_{20}$ Oese und dem Tiere 131 $^1/_{200}$ Oese des Stammes 6942 eingespritzt. Beide Tiere überstanden den Eingriff gut, befanden sich auch die folgenden 2—3 Tage wohl, bekamen aber am 4. Tage heftige Durchfälle und starben am 5. Tage. Während beim Tiere 128 erst am letzten Tage vor seinem Tode in dem diarrhoischen Stuhle die Krankheitskeime angetroffen wurden, hatte Tier 131 fast täglich einen positiven Stuhlbefund. Das Sektionsergebnis war bei beiden das gleiche, so daß hier nur das Protokoll des Tieres 131 wiedergegeben werden soll:

Darm schwappend gefüllt, stark erweitert, Serosa stark injiziert. Peritoneum glatt und spiegelnd, leicht injiziert. Keine abnorme Flüssigkeit im Abdomen. Milz nicht vergrößert, anscheinend unverändert. Darminhalt völlig flüssig, braun gefärbt im oberen, hellgelb im unteren Dickdarm. Starke Schwellung der Mesenterialdrüsen. Leber geschwollen, blutreich; viele kleine, gelbliche, bis stecknadelkopfgroße Herde in den beiden linken Lappen. Gallenblase in das Lebergewebe eingebettet, vollständig mit dickem, gelbem Eiter angefüllt, in dem sich mehrere dunkelgrüne, bis über hirsekorngroße Konkremente finden (letztere fehlten bei Tier 128).

Die bakteriologische Untersuchung der Organe ergab positiven Befund bei nachstehenden Organen: 128: Galle, Dünn-, Dick- und Mastdarm, Leber, Herzblut, Milz, Knochenmark, linke Lunge, beide Nieren und Harn. Negativ war nur die rechte Lunge. 131: Galle, Magen, Dünn-, Dick- und Mastdarm, Herzblut, linke Niere und Harn. Keine Keime wurden gefunden in der Leber, der Milz, dem Knochenmark, beiden Lungen und der rechten Niere. Die Widalsche Agglutinationsreaktion mit dem Leichenblut des Tieres 131 ergab für den ihm eingespritzten Stamm ein schwach positives Ergebnis bis 1 : 50, ein Zeichen für eine nur schwache Antikörperbildung, die vielleicht mit der Kürze der Krankheitsdauer zusammenhing. Nach den Erfahrungen des Kieler Untersuchungsamtes ist übrigens die Widalsche Reaktion bei der enteritischen Form der Paratyphuserkrankungen stets erheblich niedriger als bei der typhösen.

Das bei beiden Tieren entstandene Krankheitsbild könnte als der choleraartigen oder gastrointestinalen Form des Paratyphus, der sogenannten Fleischvergiftung, entsprechend aufgefaßt werden, womit der Beweis erbracht wäre, daß eine aus einem typhoiden Paratyphusfall gezüchtete Kultur bei Kaninchen von der Gallenblase aus als Enteritiserreger wirkt. Zwei Punkte scheinen uns aber doch von der menschlichen Fleischvergiftung abzuweichen: einmal die verhältnismäßig lange Inkubationszeit — die Tiere befanden sich 2—3 Tage nach der Operation vollständig wohl, dann erst machte sich im Verlauf von 2 weiteren Tagen die tödliche Erkrankung geltend; die Inkubationszeit bei der choleraartigen und gastrointestinalen Form des Paratyphus ist aber außerordentlich kurz, wohl niemals länger als höchstens 12 Stunden; zweitens die eitrige Entzündung der Gallenblase: in keinem der wenigen Sektionsberichte an akuter Fleischvergiftung Gestorbener, die in der Monographie Hübeners sowie neuerdings in der Zusammenstellung Herxheimers wiedergegeben sind, wird die Gallenblase als erkrankt erwähnt; man muß also wohl annehmen, daß Veränderungen an diesem Organ fehlten. Der Einwand, daß die Dauer der Krankheit zur Entstehung einer Cholecystitis zu kurz gewesen wäre, wäre nicht stichhaltig, da in dem von Kutscher mitgeteilten Fall die Krankheit 10 Tage gedauert hatte. Zudem beweist die von Orth mitgeteilte Krankheitsgeschichte, daß sogar eine Cholecystitis und Cholelithiasis typhosa schon in 4 Monaten sich entwickeln kann. Es scheint vielmehr, als ob bei den Tieren zunächst eine lokale Wucherung der Keime in der Gallenblase mit Entzündung und Eiterbildung eingesetzt und erst der später erfolgende Uebertritt in den Darm oder das Blut die tödliche Allgemeinerkrankung herbeigeführt hätte. Bemerkenswert erscheint, daß die zehnfach geringere Dosis bei dem Tier 131 genau die gleiche Wirkung auslöste wie die stärkere bei 138. Aus den Versuchen E. Fränkels und H. Muchs ist zu ersehen, daß es Paratyphus B-Stämme gibt, die eine besondere Affinität zur Gallenblase besitzen, insofern als sie — gleichgültig ob sie subkutan, intraperitoneal oder per os den Tieren zugeführt werden — regelmäßig eine eitrige Cholecystitis hervorrufen. Man wird aber nicht ohne weiteres annehmen dürfen, daß der Stamm 4962 die gleichen Eigenschaften besitzt, denn auch Typhusstämme, in die Gallenblase verimpft, machen, wie an anderer

Stelle dargelegt, chronische Gallenblasenentzündung, der wohl sicher ein akutes Stadium vorausgegangen ist.

Der Stamm 4962 hat sich also nicht als geeignet erwiesen, beim Kaninchen ein Krankheitsbild hervorzubringen, das mit der Paratyphuserkrankung des Menschen, und sei es auch nur in den möglichen Folgezuständen, z. B. der chronischen Keimträgerschaft, in Vergleich treten kann. Ob dies aber nicht in größeren Versuchsreihen doch gelegentlich der Fall sein würde, muß dahingestellt bleiben.

Eine größere Anzahl von Versuchen stellten wir mit Meerschweinchen an. Die nachstehende Tabelle gibt über diese zunächst eine kurze Uebersicht:

Tier No.	No. des Stammes	Herkunft des Stammes	Injizierte Menge	Lebensdauer des Tieres nach der Infektion	Verlauf der Infektion 1)	Keime im Kot nachgewiesen am
132	4 962	Blut	$^1/_{400}$ Oese	1 Tag	†	1. Tage
133	14 514	„	$^1/_{1000}$ „	6 Tage	†, vorher Durchfälle	1., 2., 3., 4., 6. Tage
134	4 962	„	$^1/_{1000}$ „	10 „	†	1., 2., 3., 4., 6., 7., 9. Tage
137	4 970	„	$^1/_{200}$ „	65 „	niemals krank; bei völligem Wohlbefinden getötet	3., 4., 5., 6., 7., 8., 9., 10., 11., 14., 15., 16., 17., 18., 19., 20., 21., 22., 24., 25., 27., 45., 46. Tage
139	4 970	„	$^1/_{100}$ „	17 „	keine Durchfälle, †	1., 2., 5., 6., 7., 8., 12. Tage
140	6 693	„	$^1/_{200}$ „	1 Tag	Durchfälle, †	1. Tage
142	8 092	„	$^1/_{1000}$ „	44 Tage	stets gesund, getötet	1., 2., 3., 4., 31., 34., 36. Tage
143	1 458	Stuhl	$^1/_{1000}$ „	40 „	stets gesund, getötet	1., 3., 4., 6., 7., 8., 9., 10., 15., 16., 18., 20., 23., 24., 28., 29., 30., 33., 34., 38. Tage

1) † = Tod infolge der Infektion.

Die Wirkung auf die Tiere ist also recht verschieden, ohne daß eine Gesetzmäßigkeit nach irgendeiner Richtung hervorgetreten wäre. Zwei Tiere, 132 und 140, gingen schon nach 24 Stunden ein, ohne daß man annehmen muß, daß die Operation als solche dafür verantwortlich zu machen wäre; wenigstens gab die Sektion dafür keinen Anhaltspunkt. 3 Tiere (133, 134 und 139) starben, nachdem sie zunächst keine Krankheitserscheinungen gezeigt, später aber (mit Ausnahme von 139) Durchfälle bekommen hatten, nach 6, 10 bzw. 17 Tagen. Die übrigen 3 Tiere blieben bei völligem Wohlbefinden am Leben, obwohl sich mehr oder weniger häufig — bei Tier 143 fast täglich! — die Krankheitskeime im Stuhl nachweisen ließen. Aus äußeren Gründen entschlossen wir uns, diese Tiere zu töten.

Die Sektionsbefunde der spontan eingegangenen Tiere gaben ein ziemlich einheitliches Bild mit folgenden Hauptzügen:

Keine Erscheinungen von Peritonitis oder peritonealer Reizung. Darminhalt **flüssig. Mageninhalt** schleimig, wäßrig. Darmschleimhaut meist etwas gerötet, **keine Geschwüre.** Mesenterialdrüsen stark, oft markig geschwollen. Milz nicht vergrößert, manchmal deutliche Follikelschwellung. Leber groß, blutreich; fast regelmäßig, oft sehr zahlreiche, bis stecknadelkopfgroße, gelbliche Knötcheneinlagerungen. Nebennieren leicht vergrößert und gerötet. Gallenblase stets mit dickem, rahmigem Eiter angefüllt; leichte Schrumpfung und Wandverdickung.

Ein wenig aus diesem Rahmen trat das Ergebnis bei Tier 139, das am 17. Tage nach der Operation einging, ohne daß Durchfälle eingetreten waren: Im Abdomen reichlich hämorrhagische Flüssigkeit, ebenso in großer Menge in der rechten Pleurahöhle, in der linken eine geringere Menge einer weniger blutig gefärbten Flüssigkeit. Auch im Pericard hämorrhagische Flüssigkeit; beide Blätter zum großen Teile miteinander verlötet. Auf dem Epicard eitrige, fibröse Auflagerungen. Lungen sehr blutreich, mit vermindertem Luftgehalt. Milz vergrößert. Leber- und Gallenblase wie bei den übrigen Tieren.

Eine Sekundärinfektion möchten wir in diesem Falle nicht annehmen, da aus den in den Höhlen gefundenen Flüssigkeiten Paratyphus B-Keime in Reinkultur isoliert wurden.

Die bakteriologische Untersuchung ergab bei diesen Tieren — auch dem letztgenannten — eine Ueberschwemmung der Organe mit den Krankheitskeimen, die in Herzblut, Milz, Lunge, Leber, Niere, Magen, Darm, Mesenterialdrüsen, Nebennieren, Knochenmark und auch in der Gallenblase in großer Menge gefunden wurden.

Der gesamte Obduktionsbefund (mit Ausnahme von Tier 139) gleicht im wesentlichen dem bei den Kaninchen gefundenen. Die oben betonten Unterschiede hinsichtlich der verlängerten Inkubationszeit und der eitrigen Gallenblasenentzündung gegenüber der menschlichen Fleischvergiftung sind auch hier hervorzuheben. Nur die Tiere 132 und 140, die schon nach 24 Stunden starben, könnten auch in der Kürze der Inkubation mit der menschlichen Enteritis in Vergleich treten.

Ganz anders verhielten sich die Tiere 137, 142 und 143. Diese erkrankten klinisch überhaupt nicht, waren im Gegenteil sehr munter, schieden dabei aber die Krankheitserreger mit dem Stuhl sehr häufig aus. Während bei den beiden erstgenannten Tieren durchschnittlich an jedem 3. Tage ein positiver Befund erhoben werden konnte und die Zahl der positiven Züchtungen allmählich zurückzugehen schien, hatte das Tier 145 fast täglich die Paratyphus B-Keime in seinem Kot. Wir haben also in diesen Tieren Dauerausscheider zu sehen. Leider stand uns eine längere Beobachtungszeit als 40—65 Tage nicht zur Verfügung, so daß die Frage, wie lange dieser experimentell erzeugte Zustand beim Meerschweinchen anhält, offen bleiben muß.

Weitere Versuche in dieser Richtung erscheinen uns um so mehr geboten, als die Obduktionsbefunde bei diesen Dauerausscheidern durchaus von unseren Erwartungen abwichen: Die Gallenblasen waren nämlich bei ihnen frei von stärkeren Veränderungen; nur eine leichte Schrumpfung und mäßige Wandverdickung wiesen auf eine offenbar abgelaufene Entzündung hin. Der Gallenblaseninhalt selbst war von regelrechter Beschaffenheit. In den Organen wurden bei allen Tieren — am meisten ausgesprochen bei dem am stärksten ausscheidenden Tiere 143 — die für den Paratyphus B-Keim offenbar spezifischen Veränderungen: stecknadelkopfgroße, gelbe Knötchen in der Leber (sogenannte Pseudotuberkel), Follikelschwellung der Milz, Schwellung der Mesenterialdrüsen, gefunden. Ueberraschenderweise war der bakteriologische Befund, obwohl wir, ebenso wie bei den oben beschriebenen Tieren, eine eingehende Entnahme von Material aller Organe sowie Anreicherung in Galle vornahmen, insbesondere den Darminhalt an 5 verschiedenen Stellen (Dünndarm, oben und unten, Dickdarm, oben und unten, Mastdarm) untersuchten, gänzlich negativ. Besonders muß das nochmals von der

Galle betont werden. Während man bei den Tieren 137 und 142 an die Möglichkeit einer kurz vor der Tötung eingetretenen Ausheilung denken kann, fällt diese Annahme für das Tier 143, bei dem noch am vorletzten Tage vor der Obduktion die Keime gezüchtet wurden, außerordentlich schwer. Als ganz feststehend ist anzunehmen, daß bei diesen Tieren die Gallenblase nicht das Reservoir der Keime war, wie wir es bei bacillentragenden Menschen und Tieren sonst finden. Das dürfte auch für die Zeit gelten, in der die Tiere noch eifrig ausscheiden. Man muß vielmehr wohl annehmen, daß der Darm die Vegetationsstätte der Krankheitserreger war. Daß auch bei dem Tiere 143 die Kultur aus dem Darme, trotz 5-facher Entnahme, im Stich ließ, fordert zu einer noch eingehenderen Untersuchung des Darmes bei künftigen Versuchen auf.

Wesentlich ist, daß das Verhalten der Meerschweinchen kein gleichmäßiges war: Während die Mehrzahl der Tiere nach längerer oder kürzerer Zeit der Infektion erlag, haben 3 Tiere, d. h. etwa ein Drittel der in Versuch gewesenen, keine Erkrankung gezeigt. Sie sind vielmehr für die Zeit von etwa 2 Monaten zu Keimträgern geworden. Der Grund für dieses differente Verhalten könnte in biologischen Eigentümlichkeiten der einzelnen Paratyphus B-Stämme zu suchen sein. Bei dieser Vermutung muß allerdings das Tier 133 ausgenommen werden, das am 17. Tage mit hämorrhagischer Polyserositis zugrunde ging, es sei denn, daß eine Sekundärerkrankung dabei in Betracht zu ziehen wäre. Dieses Tier war nämlich, ebenso wie das Tier 139, mit dem Stamm 4970 infiziert worden. Wie aber schon oben erwähnt, spricht nichts für die Annahme der Sekundärinfektion, so daß wir die bemerkenswerte Tatsache vor uns hätten, daß von 2 Tieren, die mit demselben Stamme in annähernd der gleichen Dosis infiziert wurden, das eine unter einem sonst dem Paratyphus gänzlich fremden Krankheitsbilde starb, während das andere gesund blieb und zum Dauerausscheider wurde.

Da die Stämme sämtlich aus Fällen von typhösem Paratyphus ausgewählt wurden, 2 der Stämme mit verschiedener Wirkung im Tierversuch (4962 und 4970) sogar derselben Epidemie entstammten, so spricht dieses unterschiedliche Verhalten wiederum für die außerordentlich schwankenden Eigenschaften des Paratyphus B-Bakteriums. Es wird später unsere Aufgabe sein, weitere Stämme in gleicher Weise zu prüfen, wobei auch Stämme anderer Herkunft, wie z. B. Fleischvergifter vom Typus Breslau (Kaensche), und ferner Kaninchen als Versuchstiere heranzuziehen sein werden, da, wie bei der Beschreibung der Versuche mit Paratyphus A-Stämmen betont, es zweifelhaft erscheint, ob die Meerschweinchengallenblase für die Bakterien der Typhus-Paratyphus-Gruppe dieselbe Empfänglichkeit besitzt wie die Kaninchen- (und Menschen-) Gallenblase.

Der histologische Befund, dessen eingehende Bearbeitung noch aussteht, erscheint beim Paratyphus B besonders charakterisiert durch die sogenannte Pseudotuberkulose der Leber. Diese Erscheinung, die bei notgeschlachteten Tieren vielfach beobachtet worden ist, kommt, wie unsere Versuche zeigen, nicht nur den Fleischvergiftern zu, sondern auch die Erreger der typhösen Form des Paratyphus geben im Tierversuch zur Bildung solcher Knötchen Veranlassung. Die Figg. 4 und 5 (Taf. II) zeigen derartige Knötchen der Leber des Tieres 132 im Uebersichtsbild (Vergrößerung 1 : 15) sowie ein einzelnes in 40-facher Vergrößerung.

Für die Biologie des Paratyphus B-Bakteriums sind diese Gebilde insofern von Wichtigkei, als ihre Entstehung, wie durch neuere Versuche

Gg. B. Grubers an entmilzten Tieren einwandfrei bewiesen worden ist, auf Toxinwirkung zurückzuführen ist, was früher nicht unbestritten war, da z. B. Joest sie als Milzzellenembolie aufgefaßt wissen wollte. Mit Rücksicht auf die Frage, ob lediglich dem Paratyphuskeim ein derartiges Zellgift eigentümlich wäre, das dem Typhus- und dem Paratyphus A-Bakterium nicht oder in weit geringerem Maße zukäme, haben wir die Lebern unserer Paratyphus A-Tiere mikroskopisch untersucht und nichts derartiges gefunden. Außer einer intraacinösen, kleinzelligen Infiltration (Taf. I, Fig. 3), die natürlich ebenfalls als Reaktion des Gewebes gegenüber den eingedrungenen Keimen oder Toxinen gelten muß, zeigten sich keine Veränderungen, so daß auch hierin ein Unterschied zwischen den Typhus- und Paratyphusbakterien einerseits und den Angehörigen der Paratyphus B-Gruppe — mögen sie nun Fleischvergifter oder Erreger eines typhusähnlichen Krankheitsbildes sein — festzustellen ist. Allerdings darf nicht außeracht gelassen werden, daß auch beim menschlichen Typhus in allerdings seltenen Fällen Pseudotuberkel beobachtet worden sind; auch bei einem unserer zahlreichen Typhuskaninchen fanden wir ähnliche Veränderungen, worauf wir an anderer Stelle schon hingewiesen haben. Es erscheint uns nicht ausgeschlossen, daß sich in dieser Gewebsreaktion eine biologische Abweichung vereinzelter Stämme vom normalen Typus ausdrückt.

Hinweisen möchten wir ferner bei dieser Gelegenheit auf eine eigentümliche Erscheinung in den Lebern der Paratyphus B-Tiere, die wir fast regelmäßig antrafen. Wir fanden bei Anwendung der Bakterienfärbung nach Nicolle (Methylenblaufärbung und nachfolgende Behandlung mit 10-proz. Tanninlösung), und zwar nur bei dieser Färbung, in den Leberschnitten ausgedehnte, körnige, krümelige Massen in den Leberzellen, und zwar zeigte es sich, daß die Zellen ganzer Leberbalken von derartigen Massen angefüllt sind, während dazwischen noch gut erhaltene Leberbalken zu sehen sind. An anderen Stellen sind diese Balken sternförmig in der Umgebung der Nekrosen angeordnet (s. Taf. II, Fig. 6 und 7, Uebersichtsbild 1 : 10 und starke Vergrößerung 1 : 750), Fibrin oder Amyloid ließ sich nicht nachweisen; auch die Fettfärbung ergab nur ganz geringe Verfettung in den Randpartien der Leberläppchen, ganz unabhängig von den körnigen Zelleinlagerungen. Der Gedanke ist nicht von der Hand zu weisen, daß wir hier beginnende Zelldegeneration, vielleicht die Vorstufen der Nekrosen, bedingt durch die Bakterientoxine, vor uns haben.

Ueberblicken wir nochmals die Ergebnisse unserer Versuche, so springt hauptsächlich das unterschiedliche Verhalten der Paratyphus A- und B-Stämme im Tierversuch, auch bei der Infektion von der Gallenblase aus, in die Augen. Wenn es auch weder beim Kaninchen, noch beim Meerschweinchen in den Versuchen mit den A-Stämmen gelang, ein der entsprechenden akuten Infektion beim Menschen auch nur entfernt ähnliches Krankheitsbild hervorzurufen, so glückte es doch in einem Falle, beim Kaninchen eine chronische Infektion mit den auch beim Menschen beobachteten Erscheinungen: chronische Cholecystitis und Cholelithiasis zu erzeugen. Wesentlich anders gestaltet sich das Verhalten der B-Stämme. Das menschliche Vorbild eines sogenannten Para-

Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 79.
Wagner* u. *Emmerich, *Experimenteller Paratyphus (A und B) etc.* **Taf I.**

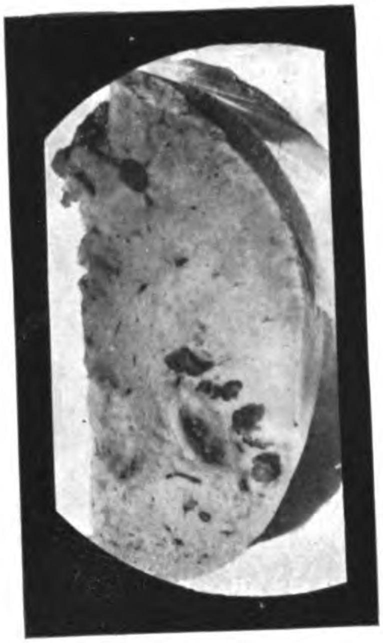


Fig. 1.

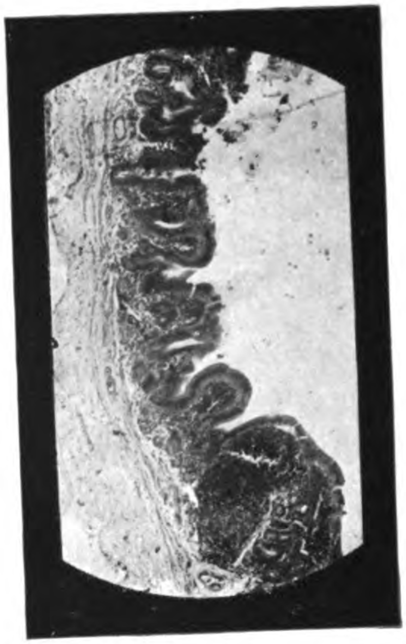


Fig. 2.

Paratyphus A.

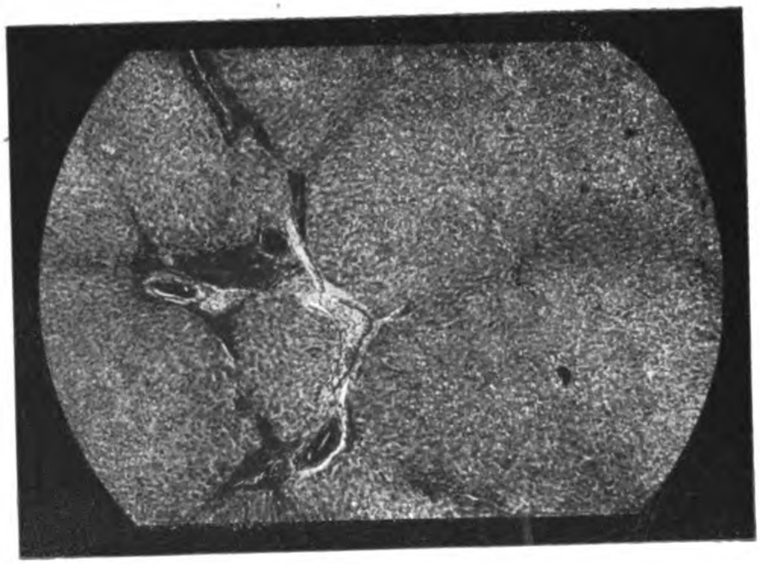


Fig. 3.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

typhus mit typhösem Verlauf wurde in keinem Falle erreicht, dagegen in der Mehrzahl der Fälle ein der menschlichen Fleischvergiftung ähnliches, aber in zwei wichtigen Punkten — längere Inkubation und akute Cholecystitis, die bei einem Kaninchen sogar bereits zu beginnender Steinbildung Veranlassung gegeben hatte — abweichendes Krankheitsbild hervorgerufen; dieses steht demnach etwa in der Mitte zwischen den beiden Typen, die wir aus der menschlichen Pathologie kennen. Drei andere Tiere wurden zu Dauerausscheidern, aber ohne daß, wie es beim menschlichen Paratyphus B-Keimträger vermutlich der Fall ist, die Gallenblase zum Reservoir der Keime wurde. Ein Tier mit hämorrhagischer Polyserositis fiel ganz aus dem Rahmen der paratyphösen Erkrankungen heraus.

Obwohl nur Paratyphus B-Stämme angewendet wurden, deren Menschenpathogenität eine ganz einheitliche war, die zum Teil derselben Epidemie entstanden, waren die Wirkungen im Tierversuch sehr verschiedenartige. Neben den in der Einleitung dargelegten Gründen spricht auch diese Tatsache dafür, daß das Paratyphus B-Bakterium in allen seinen Eigenschaften außerordentlich labil ist.

Es unterscheidet sich darin nicht nur vom Bact. typhi, sondern auch vom Bact. paratyphi A, das, wie Lehmann neuerdings stark betont, ganz mit Unrecht in der Nomenklatur mit dem Bact. paratyphi B auf eine Stufe gestellt wird, während es seinen Eigenschaften nach an die Seite des Bact. typhi gehören sollte. Unsere Versuchsergebnisse sind geeignet, diese Auffassung zu bestätigen; allerdings wird die Prüfung einer größeren Anzahl von Stämmen des A- und B-Typus nötig sein, um eine breitere Grundlage für die Beurteilung dieser Streitfrage zu schaffen. Denn man darf sich nicht verhehlen, daß die eben vor Abschluß dieser Arbeit erschienene kritische Würdigung der bisher bekannten, sowie einiger neuerdings beobachteter Obduktionsbefunde von an Paratyphus-Erkrankungen (Paratyphus abdominalis A und B, sowie Gastroenteritis paratyphosa) Verstorbenen durch Herxheimer nicht zu übersehende Tatsachen für die pathologisch-anatomisch zu begründende Zusammengehörigkeit der Paratyphuserkrankungen (A und B) und ihre Trennung vom Typhus abdominalis anführt.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I. Paratyphus A.

Fig. 1. Leber und Gallenblase eines mit Paratyphus A chronisch infizierten Kaninchens: Schrumpfung, Wandverdickung und Konkrementbildung in der Gallenblase. Neben ihr einige Steine — aus der Gallenblase entfernt und auf die Schnittfläche der Leber gelegt. Doppelte Vergrößerung.

Fig. 2. Schnitt durch die Gallenblasenwand des mit Paratyphus A chronisch infizierten Kaninchens: Adenomatöse Wucherung der Schleimhaut. Hämotoxylin, Eosin. Vergr. 1 : 20.

Fig. 3. Schnitt durch die Leber des mit Paratyphus A chronisch infizierten Kaninchens. Kleinzellige interacinöse Infiltration. Hämatoxylin, Eosin. Vergr. 1 : 50.

Tafel II. Paratyphus B.

Fig. 4. Sogenannter Pseudotuberkel in der Leber eines 10 Tage nach der Infektion mit Paratyphus B-Keimen eingegangenen Meerschweinchens (134). Uebersichtsbild. Hämatoxylin, Eosin. Vergr. 1 : 20.

Fig. 5. Ein einzelner der in Fig. 6 wiedergegebenen Pseudotuberkel. Hämatoxylin, Eosin. Vergr. 1 : 50.

Fig. 6. Degenerationsherde (?) in der Leber von Meerschweinchen, die der Infektion mit Paratyphus B-Bakterien erlagen; werden nur bei Anwendung der Nicolleschen Bakterienfärbung (Methylenblaufärbung, Nachbehandlung mit 10-proz. Tanninlösung) sichtbar. Vergr. 1 : 10.

Fig. 7. Ein Teil eines Degenerationsherdes: Leberzellen einzelner Balken mit körnigen Massen angefüllt, dazwischen gut erhaltene Leberzellbalken. Nicolle-Färbung. Vergr. 1 : 750.

Literatur.

Aumann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57. p. 310.
Bainbridge, The Lancet. 1912. p. 706.
Beckers, Hyg. Rundsch. Bd. 18. 1908. p. 313.
Bitter, L., Deutsch. med. Wochensch. 1910. p. 400.
Emmerich u. Wagner, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 24. p. 557.
— Centralbl. f. Path. Bd. 27. p. 433.
— Med. Klin. 1916. No. 3.
Evers u. Mühlens, Deutsche militärärztl. Zeitschr. Bd. 38. p. 365.
Fischer, Klin. Jahrb. Bd. 15. 1915. p. 79.
Forster u. Kayser, München. med. Wochenschr. 1905. p. 1473.
Fraenkel, E., u. Much, H., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 69. p. 342.
Gruber, Gg. B., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. p. 301.
Hailer u. Ungermann, Arb. a. d. Kais. Gesundh.-Amte. Bd. 47. p. 451.
Herxheimer, Berlin. klin. Wochenschr. 1916. p. 648.
Huebener, Fleischvergiftungen und Paratyphusinfektionen. Jena 1910. p. 118.
Jochmann, Lehrb. d. Infektionskr. 1914. p. 89.
Joest, Zeitschr. f. Infektionskr. d. Haustiere. Bd. 16. H. 6.
Koch, Jos., u. Chiarolanza, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 62. p. 32.
Köhlisch, Berlin. klin. Wochenschr. 1916. p. 358.
Küster u. Günzler, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 81. p. 516.
Kutscher, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 55. 1906. p. 331.
Lange u. Roos, Arb. a. d. Kais. Gesundh.-Amt. Bd. 50. p. 57.
Lehmann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 81. p. 275.
— Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. p. 49.
Lorey, München. med. Wochenschr. 1908. p. 15.
Marmorek, Wien. klin. Wochenschr. 1916. p. 349.
Müller, Reiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. Beih. p. 57.
—, Zeitschr. f. indukt. Abst. u. Vererbungsl. Bd. 8. 1912. p. 511.
—, München. med. Wochenschr. 1909. p. 886.
—, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 50. p. 141.
Oette, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. p. 51.
Ohne, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. p. 288.
Orth, Osk., Deutsch. med. Wochenschr. 1916. p. 1397.
Selter, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 81. p. 387.
Standfuß, Zeitschr. f. Infektionskr. d. Haustiere. Bd. 16. H. 6.
Stephan, Berlin. klin. Wochenschr. 1916. p. 569.
Uhlenhuth u. Hübener, in Kolle-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorg. 2. Aufl. Bd. 3. p. 1005.
Wagner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. p. 25.
— u. Emmerich, Med. Klin. 1916. p. 879.
Weinfurter, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. p. 379.

Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 79.

***Wagner** u. **Emmerich,** Experimenteller Paratyphus (A und B) etc.* **Taf. II.**

Paratyphus B.

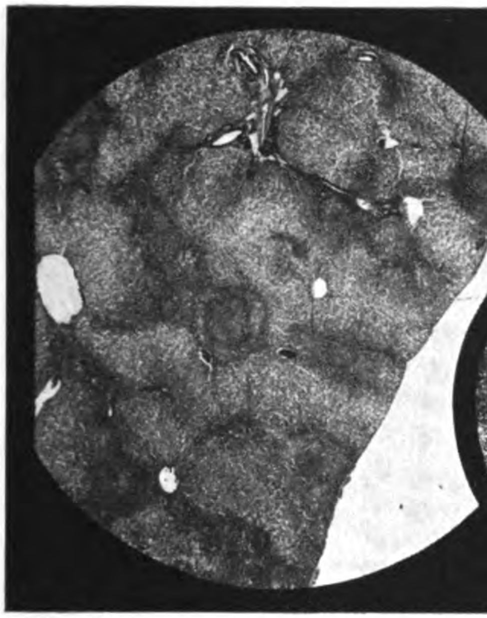


Fig. 4.

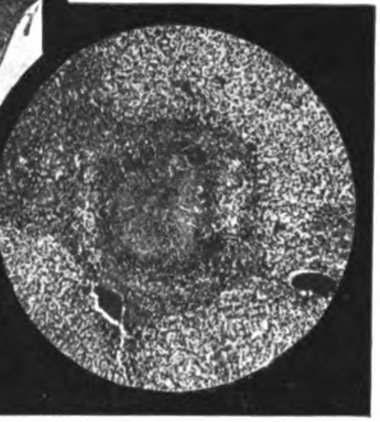


Fig. 5.

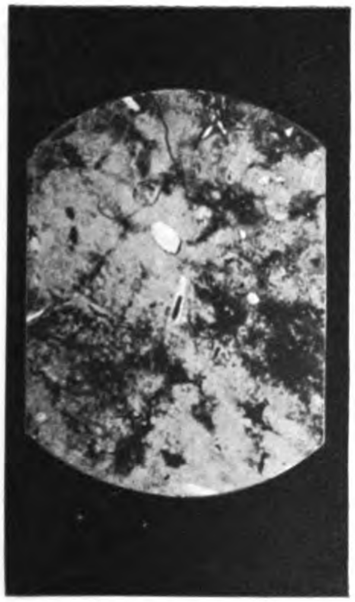


Fig. 6.

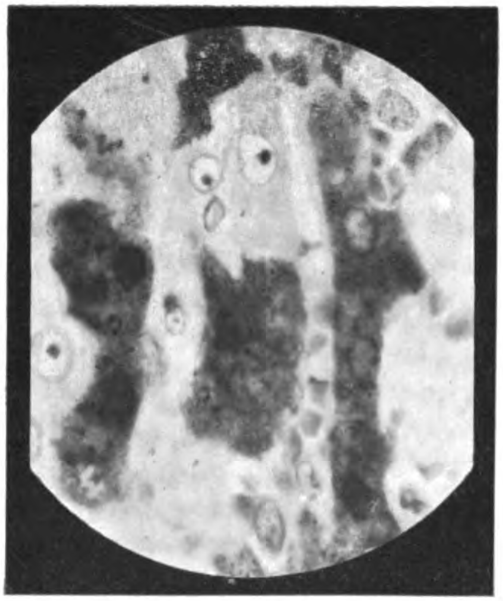


Fig. 7.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zu: v. Hövell, Ueber eine neue Gruppe typhusähnlicher, farbstoffbildender Bakterien (diese Zeitschrift I. Abt. Originale. Bd. 77. Heft 7), und Köhlisch, Gelbwachsende, den Bacillen der Typhus-Paratyphus-Gruppe ähnliche Bakterien (ebenda I. Abt. Originale. Bd. 78. Heft 3).

Von Marineoberstabsarzt **W. Riegel,**
Vorstand der bakteriologischen Untersuchungsstelle des Sanitätsamts Kiel.

Bakterien, die mit dem Typhusbacillus eine Reihe von Merkmalen teilen, deren Ansiedelungen jedoch eine mehr oder weniger deutliche gelbliche Farbe aufweisen, sind nach den Erfahrungen unserer Untersuchungsstelle nicht selten. Ich habe schon 1911 einen solchen Farbstoffbildner eben mit Rücksicht auf gewisse Aehnlichkeiten mit dem Typhusbacillus gelegentlich etwas eingehender geprüft und das Ergebnis in unserem Untersuchungsbuch niedergelegt. Der Gang meiner Untersuchungen war im wesentlichen derselbe wie bei v. Hövell. Jedoch habe ich meinen Stamm nicht geprüft hinsichtlich seines Verhaltens zu Saccharose, zu Maltose, zu den Loefflerschen Grünlösungen, zur Loefflerschen Serumplatte, zu agglutinierenden Ruhrseren und hinsichtlich der Agglutination mit Seren von Tieren, die gegen ihn immunisiert waren. Ich finde eine recht weitgehende Uebereinstimmung meiner damaligen Untersuchungsbefunde mit denen v. Hövells, jedoch auch einige bemerkenswerte Verschiedenheiten:

v. Hövells Stämme waren sämtlich gramnegativ. Mein Stamm war in seinem Verhalten der Gramfärbung gegenüber unsicher, jedoch eher positiv als negativ. Auf diesen Unterschied möchte ich indessen kein Gewicht legen, da der Ausfall der Gramfärbung bei manchen Bakterien bekanntlich von dem Alter der Kulturen und namentlich von der Technik beeinflußt wird. Was diese betrifft, so macht v. Hövell über sie keine Angaben, und auch ich kann mich nicht mehr erinnern, welche der verschiedenen Abarten der Gramfärbung ich damals angewandt habe. Wahrscheinlich habe ich mit Aceton-Alkohol entfärbt.

Kaum wesentlicher scheinen mir die folgenden Unterschiede zu sein:

v. Hövells Stämme ließen Neutralrotagar unverändert. Meiner bildete zwar auch kein Gas, jedoch trat vom 5. Tage ab eine von der Oberfläche her fortschreitende Reduktion ein. Vielleicht hat v. Hövell seine Neutralrotröhrchen nicht so lange beobachtet.

v. Hövells Stämme bildeten kein Indol. Die Peptonwasserkulturen meines Stammes gaben vom 3. Tage ab deutliche Indolreaktion. Die Indolreaktion wurde nach Ehrlich ausgeführt. Auch auf diese Abweichung meines Stammes von den Stämmen v. Hövells möchte ich kein zu großes Gewicht legen, da die Indolbildung innerhalb derselben Bakteriengruppe ja erheblich schwanken kann, da sie außerdem vom Nährboden und vom Alter der Kultur beeinflußt wird und von der Technik. So z. B. glückt der Nachweis des Indols nach Ehrlich häufiger als nach Salkowski. Vielleicht hat v. Hövell das weniger empfindliche Verfahren Salkowskis angewandt.

Ein weiterer Unterschied zwischen den v. Hövellschen Stämmen und meinem, daß jene Gelatine nicht verflüssigten, während dieser sie verflüssigte, scheint mir, angesichts des Umstandes, daß es sehr lange dauerte, bis mein Stamm sich anschickte, Gelatine im Stich bei Zimmertemperatur zu verflüssigen, nicht wesentlich. Erst am 6. Tage habe ich vermerkt, daß die Auflagerung etwas einzusinken begann. Eine deutliche Verflüssigung trat erst einige Tage später ein. Ich halte es für wohl möglich, daß v. Hövell seine Beobachtungen so früh abgebrochen hat, daß er die verzögerte Verflüssigung am Gelatinestich nicht mehr beobachten konnte. Aber wenn das auch nicht der Fall gewesen sein sollte, würde die Eigenschaft der v. Hövellschen Stämme, Gelatine, im Gegensatz zu meinem Stamm, nicht zu verflüssigen, noch nicht unbedingt für eine Artverschiedenheit sprechen, da ein proteolytisches Enzym bei derselben Bakterienart vorhanden sein oder auch fehlen kann.

Es ist mir nicht zweifelhaft, daß es sich bei dem von mir näher untersuchten, gelben Farbstoff bildenden Bakterium, ebenso bei zahlreichen ähnlichen, die ich früher und später auf Stuhlplatten gefunden habe, ohne sie näher zu prüfen, um das Bact. ochraceum (Zimmermann) gehandelt hat, einen in Wasser und auf verschiedenen Nahrungsmitteln verbreiteten Saprophyten, der mit der Typhus-Coli-Gruppe keine näheren verwandtschaftlichen Beziehungen hat, obzwar er hinsichtlich seines Aussehens, seiner Beweglichkeit und, namentlich in den ersten 24 Stunden seines Wachstums, auch hinsichtlich einer Reihe kultureller Merkmale mit dem Bact. typhi eine große, zufällige Aehnlichkeit besitzt. Ich hege auf Grund einer Reihe übereinstimmender wesentlicher Eigenschaften unserer Stämme die starke Vermutung, daß es sich bei den typhusähnlichen, farbstoffbildenden Bakterien v. Hövells nicht um ein neues Bakterium handelt, sondern ebenfalls um das altbekannte, wenn auch wegen seiner Harmlosigkeit sehr wenig genannte Bact. ochraceum Zimmermanns oder um einen sehr nahen Verwandten dieses Bakteriums. Daß das Bact. ochraceum sich bei näherem Zusehen vielleicht in eine Gruppe auflösen ließe, dafür sprechen die untereinander nicht ganz übereinstimmenden Beschreibungen der Autoren und auch die serologischen Versuche v. Hövells.

Schwierig ist es, den von Köhlisch gefundenen Stämmen gegenüber eine Vermutung zu äußern. Stamm 1 ist jedenfalls kein Ochraceus. Dagegen spricht vor allem die Beschaffenheit seiner Ansiedelungen auf der Drigalski-Platte („trocken, runzlig"), die schwere Verreibbarkeit der Ansiedelungen und das Wachstum auf Lackmusmolke („blau, faltige Haut") nach 24 Stunden. Köhlisch nennt dieses Wachstum auf Lackmusmolke „Paratyphus B-Reaktion". Ich kann ihm darin jedoch nicht beipflichten. Denn ein Paratyphusstamm, der bereits nach 24 Stunden in Lackmusmolke Alkali bildet und dazu noch eine faltige Oberflächenhaut, müßte noch gefunden werden. Ich halte es nicht für ausgeschlossen, daß der Stamm 1 von Köhlisch dem Ascobacillus citreus (Unna und Tommasoli) nahesteht, einem beweglichen Stäbchen, das gelbe Ansiedelungen bildet, die sich schwer verreiben lassen. Das Verhalten dieses Bakteriums auf den gebräuchlichen Typhusnährböden ist mir allerdings nicht bekannt.

Die Stämme 2 und 3 von Köhlisch wäre ich geneigt, für Ochraceus zu halten, da, von der Gramfärbung abgesehen, die ich bei Ochraceus für zweifelhaft und daher nicht für wesentlich ansehe, für dieses Bakterium die folgenden Beobachtungen von Köhlisch sprechen: Die ausgesprochene Typhusähnlichkeit eines Teils der Ansiedelungen auf

Drigalski-Agar („glashell, dursichtig"), die gelbe Farbe der älteren Ansiedelungen und das Verhalten der Stämme auf Traubenzucker-, auf Milchzucker- und auf Mannit-Nutroselackmuslösung. In diesen Eigenschaften stimmen die beiden Stämme mit denen v. Hövells und mit meinem Ochraceusstamm vollständig überein. Der Umstand, daß Köhlisch die Stämme 2 und 3 in einem Abstand von 10 Tagen aus Blut gezüchtet hat, das von einem Typhuskranken stammte, würde mich an sich noch nicht an der Diagnose „Ochraceus" irre machen. Zwar halte ich es für ausgeschlossen, weil jeder Erfahrung widersprechend, daß ein Saprophyt, wie es der Ochraceus ohne Zweifel ist, sich 10 Tage lang im lebenden Blut halten könnte. Allein es stammt eben nicht alles, was sich aus Blut züchten läßt, wirklich aus dem kreisenden Blut, zumal wenn das Blut, wie es bei den von Köhlisch verarbeiteten Proben der Fall gewesen zu sein scheint, in den gewöhnlichen, mit Korkstopfen verschlossenen Versandröhrchen von auswärts eingeschickt worden ist. Wir haben es schon öfter erlebt, daß uns dieselben Verunreinigungen von derselben Stelle bei wiederholten Blutsendungen aus dem gleichen Kranken eingeschickt worden sind. Indes solchen naheliegenden Annahmen widersprechen die ganz außerordentlichen Agglutinationsergebnisse von Köhlisch: Er hat bei der Gruber-Widal-Probe mit dem Serum des Kranken, von dessen Blut die Stämme gezüchtet waren, gegen Stamm 2 noch in der Verdünnung von 1:800 eine, wie er ausdrücklich bemerkt, sehr starke Reaktion erzielt. Mit größeren Verdünnungen hat er nicht geprüft. Man kann jedoch, angesichts des Umstandes, daß die Agglutination mit der Verdünnung 1:800 noch sehr stark ausgefallen ist, mit Sicherheit annehmen, daß es auch bei erheblich größeren Verdünnungen zu positiven Reaktionen gekommen wäre. Demgegenüber steht (am Ende eines zweiten Typhusrückfalls bei einem Schutzgeimpften, bei dem nie Typhus- oder Paratyphusbacillen nachgewiesen werden konnten!) ein Gruber-Widal gegen Typhusbacillen von 1:50, gegen Paratyphus B-Bacillen von 1:200 und gegen Flexnerbacillen von 1:100. Diesem Gruber-Widal gegenüber und den ebenfalls sehr merkwürdigen Beobachtungen von Köhlisch über die Agglutination einer Reihe verschiedener Bakterien mit Serum von Kaninchen, die gegen die gelbwachsenden Stämme immunisert worden waren (Serum 2 z. B. hat seinen eigenen Stamm und Stamm 3 ebenso hoch agglutiniert wie einen Typhusbacillenstamm, einen Flexnerstamm aber noch bedeutend höher) kann man die Meinung, daß vielleicht auch hier der harmlose Ockergelbe im Spiel gewesen sei, kaum aufrecht erhalten.

Literatur.

Zimmermann, Die Bakterien unserer Trink- und Nutzwässer. Teil I. Chemnitz. 1890.
Flügge, Die Mikroorganismen. Teil II. Leipzig. 1896.
Lehmann u. Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. Teil II. 4. Aufl. München. 1907.

Nachdruck verboten.

„Gärtner-Bacillen“ und „Rattenschädlinge“.

(Zugleich eine Antwort an Dr. med. Franz Ickert.)

Von **L. Bahr**,
Tierarzt und Laboratoriumsvorsteher (Kopenhagen).

Die Frage, betreffend die Unterscheidungsmerkmale zwischen den Bakterien, die als Gärtner-Bakterien (B. enteritidis Gärtner) bezeichnet werden, und den sogenannten Rattenschädlingen (Bakterien, die hauptsächlich während der letzten Jahre eine starke Verwendung zur Bekämpfung u. a. der Ratten- und Mäuseplage gefunden haben), ist noch nicht hinreichend beantwortet — oder, richtiger gesagt, wir können mit unseren jetzigen Untersuchungsmitteln keine Verschiedenheiten angeben.

Da ich während einer Reihe von Jahren mit Untersuchungen beschäftigt gewesen bin, die u. a. die Beantwortung dieser Frage bezweckten, will ich die folgenden vorläufigen Versuchsresultate mitteilen, die zeigen, daß es doch biologische Verschiedenheiten gibt, die Anwendung in differentialdiagnostischer Beziehung finden können.

Wie ich in einer früheren Arbeit[1]) gezeigt habe, sind die Bakterien, die von verschiedenen Laboratorien als B. enteritidis Gärtner bezeichnet werden, nicht identisch, und dies haben meine späteren Untersuchungen[2]) bestätigt. Die Untersuchungen, die ich hier mitteile, umfassen folgende Gärtner-Kulturen:

1. „Original Gärtner“	(seiner Zeit von Králs Laborat. empfangen)
2. „Original Gärtner“	(Dr. Trautmann, Hamburg)
3. „Original Gärtner“	(Kaiserl. Gesundheitsamt, Berlin)
4. „Gärtner Morse“	(„ „ „)
5. „Original Gärtner“	(Lister Institute, London)
6. „B. ent. Gärtner Lab.“	(„ „ „)
7. „B. ent. Gärtner“	(Hygienisches Institut, Halle a. S.)
8. „B. ent. Gärtner“	(Hygienisches Institut, Dresden)
9. „B. ent. Gärtner“	(Bakteriologisches Institut, Halle a. S.)
10. „B. ent. Gärtner“	(Staatliches Seruminstitut, Kopenhagen)

Die Untersuchungen umfaßten ferner folgende „Rattenschädlinge“:

11. Bacillus „Danysz“	(Paris)
12. „Ratin“	(Kopenhagen)
13. „Ratts“	(Dr. Levin, Stockholm)
14. „Dunbar“	(Hamburg)
15. „Issatschenko“	(Rußland) und

16., 17. 2 Kulturen, unter der Bezeichnung „Gärtner Ratte 10“ und „Gärtner Ratte 3“ vom Kaiserlichen Gesundheitsamt, Berlin, empfangen. Beide Kulturen waren aus Ratten isoliert.

Endlich habe ich eine Mäusetyphusbacillus-Kultur in die Versuchsreihe mitaufgenommen.

Morphologie. Was die morphologischen Verhältnisse anbetrifft, so konnten Verschiedenheiten nicht festgestellt werden. Es handelte sich um kleine, ovale, bewegliche, mit Cilien versehene Bakterien, die sich nach Gram nicht färben ließen und keine Sporen bildeten.

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910. H. 3.

[2]) Diese Untersuchungen, die übrigens eine große Reihe von Paratyphus A-, Paratyphus B-, Schweinepest-Kulturen und Fleischvergiftungsbacillen, Bacillen von einer Reihe von Kälberdiarrhöe-Fällen nebst Fällen von Mäuse- und Rattentyphus umfassen, werden später in extenso veröffentlicht werden.

Biologie. Die Untersuchungen umfassen Versuche über das Wachstum auf:

a) **Gelatine:** Die verwendete Gelatine hatte folgende Zusammensetzung:

200 g Gelatine
1000 g destill. Wasser
10 g Pepton
20 g Cibils Fleischextrakt.

Nach Neutralisation mit Natron hatten 10 ccm davon einen Titer gegenüber $^1/_{10}$ norm. Natron (Indikator: Phenolphthalein) von 0,3. Im allgemeinen wird angegeben, daß die Gelatinekultur nichts Charakteristisches bietet und variiert. Nichtsdestoweniger sind aber deutliche Verschiedenheiten festzustellen, und namentlich zeigen die frisch gezüchteten Stämme sehr konstant eine bestimmte Art von Wachstum, wenn sie an der Oberfläche von schräg erstarrter Gelatine in Reagenzgläsern ausgesät werden, und namentlich wenn man die Kulturen längere Zeit (3 Wochen bis 1 Monat) bei gewöhnlicher Zimmertemperatur (20° C) stehen läßt, bevor das Resultat notiert wird [1]).

Wenn dies befolgt wird, so wird man sehen, daß, während einige Kulturen sich als ein trockener, oft runzeliger Belag auf der Oberfläche der Gelatine präsentieren, sich andere als eine sehr schleimige Masse zeigen, die nach und nach herabgleitet und sich an der tiefsten Stelle des Reagenzglases sammelt. Eine Zwischenstellung nimmt eine 3. Sorte von Kulturen ein, die weder als eine trockene noch als eine schleimige Masse wächst, sondern als feuchter Belag, der selbst nicht nach längerem Stehen herabgleitet.

Keine der Formen war imstande, Gelatine zu verflüssigen. Das oben genannte Wachstumverhältnis ist bekanntlich schon früher beobachtet worden (u. a. von Fischer und M. Christiansen); es wird aber nur vorübergehend in der Abhandlung von Uhlenhuth und Hübener über Paratyphus B im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann erwähnt und scheint nicht die Beachtung gefunden zu haben, die es auch nach meinen Untersuchungen verdient. Variierendes Wachstum tritt durch Gelatine von verschiedener Herstellung, Konzentration und Titer auf und möglicherweise auch durch alte Stämme.

b) **Gärung der Zuckerarten und polyvalenten Alkohole.** Bei den Zuckerarten und polyvalenten Alkoholen, die ich zu den Versuchen verwendete, konnten Verschiedenheiten in den Gärungsverhältnissen nicht festgestellt werden. Es wurde Cibils Bouillon mit Auflösungen von $^1/_2$—1 Proz. von bzw. Glykose, Maltose, Arabinose, Xylose, Rhamnose, Dulcit, Laktose, Saccharose und Adonit verwendet. Alle vergärten unter Säurebildung und in der Regel mit Luftproduktion, mit Ausnahme der 3 letztgenannten, die keine der Kulturen zu spalten vermögen, und die auch nicht daran gewöhnt werden konnten.

c) **Milch.** Auch Milchkulturen zeigten keine Verschiedenheiten. Alle Kulturen wuchsen hierin gut, aber ohne die Milch zu koagulieren. Nach 14 Tagen bis 3 Wochen wurde das Substrat in eine molkenähnliche, alkalisch reagierende Flüssigkeit umgewandelt.

d) **Ammoniak** (C. O. Jensen). Die Versuche gingen darauf aus, zu untersuchen, inwieweit die Kulturen imstande waren, die N-Quelle

---

1) Es ist selbstverständlich, daß alle besäten Gläser unter denselben äußeren Verhältnissen (dieselbe Temperatur, Feuchtigkeit und ähnliches) stehen müssen.

eines eiweißfreien, N-haltigen Substrats bei Vorhandensein der nötigen Salze und einer Energiequelle (z. B. Glykose) zu benutzen. Zu diesem Zwecke wurden die durch Eintrocknen und langes Glühen gewonnenen Salze aus Cibils Fleischextrakt in destilliertem Wasser (c. 3 g Salze zu 1000 g destill. Wasser) aufgelöst, und hierin wurde 2 Proz. sekund. phosphorsaures Ammoniak und 1 Proz. Glykose aufgelöst. Wenn die Kulturen imstande waren, diese N-Quelle zu benutzen, so konnten sie in diesem Substrat wachsen, sonst nicht. Es ist dabei zu beachten, daß nur eine kleine Menge Kultur ohne Agarbestandteile ausgesät wird; um sicher zu sein, daß dies der Fall ist, wird die Aussat am besten immer von der Wuchsmasse auf Schräggelatine und die Neusaat auf neues Substrat von den Kulturgläsern, worin Wachstum stattgefunden hat, vorgenommen. Dies sollte immer geschehen, um Irrtümer zu vermeiden. Die besäten Substratgläser müssen etwa 10 Tage im Thermostaten (37°) stehen, bevor das Resultat notiert wird.

Es zeigte sich nun, daß alle angeführten Kulturen imstande waren, hierauf zu wachsen.

e) Ferner wurde das Verhalten der Formen gegenüber den Ammoniakverbindungen einer Reihe von organischen Säuren, wenn die Säuren in oben genannter Salzlösung aufgelöst wurden, untersucht. Es wurde mit verdünntem Ammoniakwasser neutralisiert. Hier soll nur zuckersaures und schleimsaures Ammoniak erwähnt werden, welche in differentialdiagnostischer Beziehung größtes Interesse boten. In Salzlösung wurde 1 Proz. zuckersaures oder schleimsaures Ammoniakwasser aufgelöst, und dann wurde unter denselben Vorsichtsmaßregeln wie oben ausgesät. In Fällen von Wachstum im neuen Substrat wurde ebenfalls immer Neuaussaat vorgenommen; die besäten Gläser müssen dann etwa 10 Tage im Thermostaten (37° C) stehen, bevor das Resultat notiert wird.

Agglutination. Zu den Agglutinationsversuchen wurden benutzt: 1 Paratyphus A-Serum (Titer 1:5000), 2 Paratyphus B-Sera (Kaninchen, Pferd, Titer 1:10000), 1 Schweinepest-Serum („Voldagsen“, Titer 1:10000), 1 Ratin-Serum (Titer 1:10000), 2 Gärtner-Sera (Kaninchen, Ziege, Titer 1:10000) und 1 Kälber-Paracoli-Serum (Titer 1:10000).

Das Resultat der Agglutinationsuntersuchungen und der übrigen Untersuchungen geht aus der Tabelle p. 23 hervor:

Ich will hier nicht auf Einzelheiten dieses Schemas näher eingehen, sondern werde in einer späteren Abhandlung auf die verschiedenen Verhältnisse, die u. a. auch aus diesen Untersuchungen hervorgehen, näher eingehen. Jedenfalls geht aber mit aller Deutlichkeit aus diesem Schema hervor, daß die Bakterien, die unter dem Namen B. enteritidis Gärtner gehen, wie schon früher hervorgehoben, recht verschieden sind, weshalb dieser Name im Augenblicke recht irreleitend ist. Betrachten wir indessen, was ich für das Natürlichste erachte, nur diejenigen Kulturen als echte B. enteritidis Gärtner-Bacillen, die sich wie III und IV verhalten, d. h. die durch die Gärtner-Sera stark agglutinierten, so geht aus den Untersuchungen hervor, daß alle 5 auf der beschriebenen Gelatine nach 3–4 Wochen bei Zimmertemperatur (20° C) als trockener Belag auf der Oberfläche wuchsen und nicht imstande sind, zuckersaures und schleimsaures Ammoniak[1]) in Cibils Salz-

---

[1]) Durch „Aushungern“ der Stämme, welche dieses Verhältnis zeigten, d. h. durch Aussäen in Cibils Fleischextraktbouillon (ohne Pepton) + zuckersaurem oder schleimsaurem Ammoniak und durch Wachstum hierin während längerer Zeit (1 Monat) stellte es sich heraus, daß die Stämme auf diese Weise daran gewöhnt werden könnten,

	Cibils Bouillon +									Cibils Salzlösung +			Milch	Agglutination						Gelatine	Zahl der Kulturen	Bezeichnung der Kulturen
	Glykose	Laktose	Saccharose	Maltose	Arabinose	Xylose	Rhamnose	Dulcit	Adonit	2 % phosphorsaures Am. + 1 % Glykose	1 % zuckersaures Am.	1 % schleimsaures Am.		Paratyphus A-Serum	Paratyphus B-Serum	Voldagsen-Serum	Gärtner-Serum	Ratin Serum	Kälber-Paracoli-Serum			
I.	g/s	0	0	g/s	g/s	g/s	g/s	g/s	0	W	W	W	alkalisch molkenähnlich	θ	+	+	θ	θ	θ	Sehr schleimiges Wachstum	2	1. B. enter. Gärtner (Hyg. Inst., Halle a. d. Saale). 2. B. enter. Gärtner (Bakt. Inst., Halle a. d. S).
II.	„			„	„	„	„	„	„	W	W	W	dgl.	θ	θ	+	θ	θ	θ	Trockenes Wachstum	2	1. B. enter. Gärtner (Dresden). 2. B. enter. Gärtner „Lab.“ (Lister Inst., London).
III.	„			„	„	„	„	„	„	W	÷	÷	„	θ	θ	θ	+	+	+	Trockenes Wachstum	4	1. B. enter. Gärtner (Král). 2. Original Gärtner (Kaiserl. Gesundheitsamt Berlin). 3. Gärtner Moose (Kaiserl. Gesundheitsamt Berlin). 4. Original Gärtner (Trautmann, Hamburg.)
IV.	„			„	„	„	„	„	„	W	÷	÷	„	θ	θ	θ	+	θ	+	Trockenes Wachstum	1	B. enter. Gärtner, Kopenhagen.
V.	„			„	„	„	„	„	„	W	W	W	„	θ	θ	θ	θ	θ	+	Trockenes Wachstum	1	Original Gärtner (Lister Inst., London).
VI.	„			„	„	„	„	„	„	W	W	W	„	θ	+	+	θ	θ	θ	Trockenes Wachstum	1	Mäusetyphusbacillus (Král).
VII.	„			„	„	„	„	„	„	W	W	W	„	θ	θ	θ	+	+	+	Feuchter Belag	6	1. „Danysz“, Paris. 2. „Ratin“, Kopenhagen. 3. „Ratts“, Stockholm. 4. „Issatschenko“, Rußland. 5. Gärtner Ratte 3 } Kaiserl. Gesundh.-amt Berlin. 6. Gärtner Ratte 10 }
																				Trockenes Wachstum	1	„Dunbar“, Hamburg.

Im Schema bedeutet g = Gasproduktion, s = Säureproduktion, 0 = keine Spaltung, W = Wachstum, ÷ = kein Wachstum, + = starke Agglutination, θ = keine Agglutination.

lösung auszunutzen. Im Gegensatz hierzu sind alle untersuchten „Rattenschädlinge“ imstande, auf diesen Substraten zu wachsen, wobei, mit einer Ausnahme („Dunbar“), auf der Gelatine ein feuchtes Wachstum auftritt. Wir besitzen daher hierin ein Substrat, das zur Trennung der echten Gärtner-Bacillen von den Bakterien, die gewöhnlich unter dem Namen „Rattenschädlinge“ gehen, dienen kann. Recht interessant ist es, daß die 2 Kulturen vom Kaiserlichen Gesundheitsamt, Berlin, die bzw. als „Gärtner Ratte 10“ und „Gärtner Ratte 3“ bezeichnet waren, sich ganz wie die zu den sogenannten „Rattenschädlingen“ gehörenden Bacillen verhalten; sie sind auch aus Ratten isoliert, und es liegt daher meiner Ansicht nach nahe, anzunehmen, daß es sich hier nicht um Gärtner-Bacillen, sondern um „Rattenschädlinge“ handelt.

Im Anschluß hieran will ich noch einige Versuche erwähnen, die ich mit einem Bacillus, welchen Dr. med. F. Ickert während einer Fleischvergiftungsepidemie unter den Soldaten in Belgien (1915)[1]) isoliert hat, unternommen habe. Ich will dabei hier nicht näher auf die Richtigkeit der Schlußfolgerungen Dr. Ickerts betreffs des Ursachsverhältnisses zwischen diesem Bacillus und den Krankheitsfällen unter den Soldaten eingehen, obgleich in dieser Beziehung gewiß Einwendungen gemacht werden könnten, sondern nur bemerken, daß Dr. I. zu dem Schlusse kommt, daß „die geschilderten Massenerkrankungen in Form einer toxischen Gastritis oder Gastroenteritis auf eine Infektion mit einer durch Fleischpassage menschenpathogen gewordenen Rattenschädlingsgruppe[2]) zurückzuführen sind“.

Auf mein Ersuchen erhielt ich eine Originalkultur Ickerts von diesem Bacillus zugesandt. Die Kultur war unrein, da sie Gelatine verflüssigte. Durch Plattenguß konnte aber der von Dr. Ickert beschriebene Bacillus leicht in Reinkultur isoliert werden. Bei näherer Untersuchung auf die vorher beschriebene Weise verhielt derselbe sich genau wie der oben genannte Typus III, wich also von den Rattenschädlingen ab. Was seine pathogenen Eigenschaften gegenüber Mäusen und Ratten anbetrifft, so zeigten meine Versuche, daß er per os graubraunen Ratten gegenüber in sehr geringem Grade virulent war, was nach meinen Versuchen auch von den Gärtner-Bacillen gilt, und daß er, im Gegensatz zu diesen, auch für weiße Mäuse sehr wenig pathogen war. Selbst große Dosen per os hatten gar keine pathogene Wirkung bei diesen Tieren. Durch intraabdominale Injektion (0,2 ccm) zeigte er sich weißen Mäusen gegenüber pathogen, aber selbst solche „erfrischte“ Kulturen zeigten per os keine pathogene Wirkung für Mäuse.

Das Resultat dieser Untersuchungen ist also, daß der von Dr. Ickert beschriebene Bacillus den Gärtner-Bacillen am nächsten steht, von diesen aber durch seine geringe Virulenz weißen Mäusen gegenüber abweicht. Der Bacillus weicht von der sogenannten „Rattenschädlingsgruppe“ u. a. durch sein Wachstum auf Gelatine ab, und dadurch, daß er in zuckersaurem oder schleimsaurem Ammoniak in Cibils Salzlösung nicht wachsen kann.

---

bzw. zuckersaures oder schleimsaures Ammoniak zu benutzen, während sie im übrigen unverändert blieben.

[1]) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1916. H. 2.

[2]) Soll sicher „Bacillus der Rattenschädlingsgruppe“ heißen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nachdruck verboten.

Experimentelles über die Jerichobeule.

b) Reinkultur des Parasiten der Beule.

[Aus dem Hospital des Roten Halbmondes (Leiter: Prof. Dr. Neschat Omar Bey) und der Bakteriologischen Abteilung des Jewish Health Bureau in Jerusalem (Leiter: Dr. Goldberg).]

Von Dr. **Arif Ata Bey**, Dr. **L. Goldberg** und Prof. Dr. **Neschat Omar Bey.**

Mit 1 Figur im Text.

In weiteren Studien über die Aetiologie der Jerichobeule (zusammen mit cand. med. Seveddin Bey) ist es uns geglückt, den Parasiten der Beule in Reinkultur zu züchten. Wir gingen dabei folgendermaßen vor:

Aus der Gesichtsbeule eines Soldaten aus Jericho — die anderen Beulengebiete sind anamnestisch mit Sicherheit auszuschließen — wurde ein Granulationsstückchen unter aseptischen Kautelen exstirpiert, mit physiologischer Kochsalzlösung verrieben und auf 35 Blutagarröhrchen zur Aussaat gebracht. Die Bruttemperatur betrug 22°. Am 12.—13. Tage konnten wir in 2 Röhrchen begeißelte, teils runde, teils spindelförmige Flagellaten bemerken. Im nativen Präparat fanden sich die Parasiten zu größeren Haufen konglomeriert, hier und da waren auch einzelne, in schneller Bewegung freischwimmende Parasiten sichtbar. Die Geißeln der konglomerierten Parasiten waren im Zentrum des Haufens knäuelartig ineinander verflochten, an der Peripherie aber in freier, wellender Bewegung begriffen.

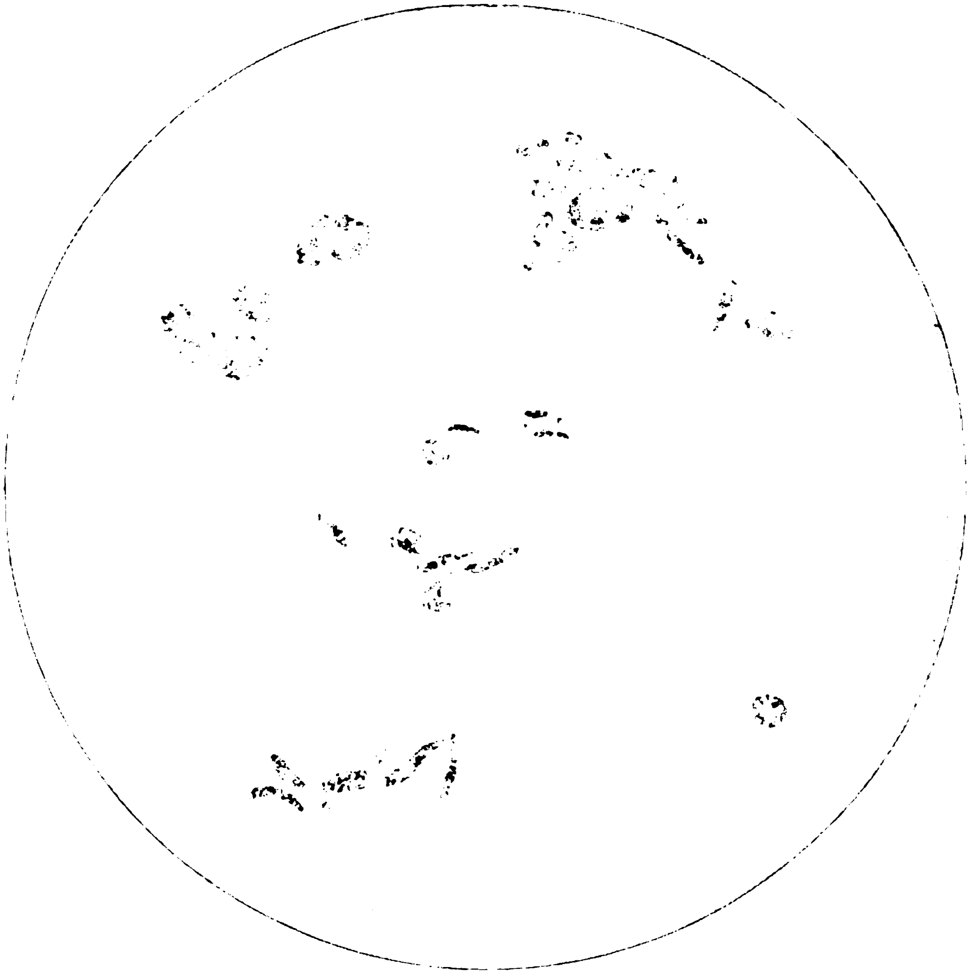
In nach Giemsa gefärbten Präparaten lassen sich die einzelnen Bestandteile dieser Leptomonaden mit Leichtigkeit unterscheiden. Das Protoplasma färbt sich hellblau und weist, der Form nach, 2 Haupttypen auf:

a) den kurzovalen, birnförmigen und
b) den langgestreckten, spindelförmigen Typus.

Es schließt meist zahlreiche Vakuolen und azurophile Granula ein. Mit der Ansicht einiger Autoren, die in diesen beiden Formtypen differenzierte Sexualzellen erkennen wollen, können wir uns zurzeit nicht einverstanden erklären; in unserer Kultur gab es weder Unterschiede in der Affinität zum Farbstoffe, noch in der Lagerung oder Struktur des Chromatins. Das morphologische Aussehen allein genügt nicht zur Begründung dieser Einteilung, umsomehr als in der Kultur alle Uebergänge von einem zum anderen Typus anzutreffen sind. Der Hauptkern färbt sich rotviolett und ist in verschiedenen Teilungsstadien anzutreffen. Er liegt in der Regel neben dem Blepharoplasten. Der Blepharoplast ist immer in Form eines feinen, dunkelrot gefärbten, lichtbrechenden Stäbchens zu sehen und bildet die Wurzel der Geißel. Er steht mit der freien Geißel durch ein kurzes Geißelstück, Rhizoplast, der aber noch im Protoplasma gelegen ist, in Verbindung. Der Blepharoplast nimmt die Farbe sehr langsam auf. Die Geißel, die sich unter allen Zellbestandteilen am schlechtesten färbt, hebt sich bei feinen Differenzierungsfärbungen nur dadurch vom Milieu ab, daß in ihrem Verlaufe die sonst auf das ganze Präparat fein verteilten Farbniederschläge fehlen; sie erscheint als ungefärbtes, dickes, kurzes Spiral-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

gebilde von 2—4 breiten, ungleichen, nach dem freien Ende zu sich verkleinernden Windungen. Das Ansatzende am Protoplasma geht in den Rhizoplast über, der innerhalb des Zellkörpers liegt und bei gleichen Verhältnissen ebenfalls ungefärbt erscheint. Bei Färbung mit konzentriertem Farbstoff kann schließlich auch die Geißel samt Rhizoplast gefärbt erscheinen; dabei werden aber die übrigen Zellbestandteile stark überfärbt und unübersichtlich. Bei protrahierter Färbung mit stark verdünntem Farbstoff färben sich die einzelnen Zellteile in der Reihenfolge: Protoplasma, Kern-Blepharoplast, Geißel.



Die Vermehrung der Flagellaten geschieht auf dem Wege der Längsteilung; die Teilung beginnt mit Verdopplung der Geißel, darauf teilt sich der Blepharoplast, der Kern und endlich das Protoplasma. Ziemlich häufig sieht man multiple Längsteilung angedeutet.

Subkulturen auf Agar nach Novy-Mac-Neal gelangen ohne Schwierigkeit und ergaben schon in 24—48 Stunden sehr zahlreiche Flagellaten.

Diese Beschreibung der aus der Jerichobeule kultivierten Parasiten, wie sie uns auch aus den bei anderen Beulenerkrankungen gewonnenen Kulturen bekannt geworden sind, sowie auch die experimentelle Uebertragung auf einen Affen (veröffentlicht von Dr. L. Goldberg), berechtigen uns, die Jerichobeule mit Sicherheit in die Gruppe der Hautleishmaniosen einzureihen.

Nachdruck verboten.

Ueber eine pemphigusartige Erkrankung bei Lacerta agilis L., durch Gregarinen hervorgerufen.

Von Stabsarzt Dr. **Hermann Schöppler,** München.

Mit 2 Figuren im Text.

Es ist bekannt, daß gerade in neuester Zeit verschiedene Tierarten immer mehr an Zahl in Gegenden zurückgehen, in denen sie vor noch verhältnismäßig kurzer Zeit anzutreffen waren. Zu diesen Tieren gehört auch die Eidechse. Jäckel[1]) konnte dies bereits im Jahre 1871 für Lacerta vivipara Jacq. für Regensburg nachweisen, und bei Lacerta agilis L., habe ich[2]) im Jahre 1910 das gleiche Verhalten in derselben Gegend ebenfalls feststellen können. Es unterliegt keinem Zweifel, daß Zeiten kommen müssen, wo diese Tierart schließlich gänzlich aus gewissen Länderstrichen Deutschlands verschwunden sein wird. Floericke[3]) hat auch bereits auf die verschiedensten Schädigungen aufmerksam gemacht, die unser modernes Kulturleben mit sich bringt, und die der Todfeind jeder Kreatur sein müssen. Zu diesen Schädigungen möchte ich aber noch ein Moment hinzufügen, das anscheinend nicht genügende Beachtung bisher gefunden hat, nämlich, daß neben diesen „Kulturschädlichkeiten“ auch Krankheiten die Ursache des Aussterbens von Tierarten in gewissen Gegenden abgeben können. Eine von mir gemachte Beobachtung möchte die von mir dahin ausgesprochene Ansicht bestätigen.

Bei biologischen Versuchen zeigte sich im Frühjahr 1912, daß bei der Ueberwinterung von Lacerta agilis L. im Terrarium beim Erwachen aus dem schlafartigen Zustande während der Winterzeit ein Tier plötzlich sehr unruhig zu werden begann, sich mühsam hin- und herschleppte, zuweilen den Rachen aufsperrte, mit der Zunge das im Terrarium befindliche Moos zu belecken begann. Beim Darreichen von Wasser nahm es dasselbe wohl an, verweigerte jedoch bald die Aufnahme desselben. Nahrung in Form von Würmern wurde stets zurückgewiesen. So dauerte dies Verhalten einige Wochen an, als plötzlich am Körper blasenartige Erhöhungen unter der Haut auftraten, die sehr schnell einsanken und dann rundliche Löcher hinterließen, die trichterförmig in die Tiefe gingen. Dieser Vorgang dauerte 4 Tage und führte zum raschen Tode des Tieres.

Wie aus beifolgender Abbildung (Fig. 1) zu sehen ist, hat die Erkrankung mit jener Form der Blasenbildung beim Hungerzustand der überwinterten Eidechse nichts zu tun; den Terrarienbesitzern und Experimentatoren ist jene Erscheinung ja wohl bekannt, was mir auch mein kleiner Aufsatz in einem Spezialblatte bewies[4]). Die Erkrankung mußte also auf etwas anderem beruhen.

Die von mir vorgenommene Untersuchung des Kadavers ergab nun eine außerordentlich starke Entzündung der ganzen Magen-Darmschleimhaut, die eine fast blaurötliche Farbe aufwies. Der spärliche Darminhalt zeigte eine trübe, gelblich-weisse, an Eiter erinnernde Farbe. In ihm fanden sich mikroskopisch massenhaft Gregarinen. Ausstriche aus der Leibeshöhlenflüssigkeit ergaben das gleiche mikroskopische Bild. Die Pusteln der Haut waren mit trübem, schmutzig-grauem Belag ausgekleidet, der auf einem grauroten Granulationsgewebe auflag. Abstriche des Belages ergaben, wie beifolgendes Mikrophotogramm zeigt (Fig. 2), ebenfalls reichliche Gregarinen. Ich vermute nun, daß es bei dem Tiere zu einer Gregarinenenteritis kam, und durch Verschleppung auf dem Wege der Blut- oder auch Lymphbahnen zur pemphigusartigen Erkrankung.

---

[1]) Jäckel, A. J., Die Kriechtiere und Lurche des Königreichs Bayern. (Korrespondenzbl. d. zool.-mineralog. Ver. Regensburg. Jahrg. 25. 1871. No. 6—7.)

[2]) Schöppler, H., Ueber das Verschwinden der Eidechse aus der Umgebung von Regensburg. (Ber. d. naturw. Ver. Regensburg. H. 13. 1912.)

[3]) Floericke, R., Umschau über die Naturschutzbewegung. (Kosmos. Jahrg. 6. 1909.)

[4]) Schöppler, H., Pemphigusartige Erkrankung bei Lacerta agilis L. (Blätt. f. Aquar. u. Terrarienk. Jahrgang 26. 1915. No. 8.)

Durch die Forschungen von Doflein[1], França[2], Marceau[3], Reichenow[4] u. a. m. ist festgestellt worden, daß die Eidechsenarten nicht selten die Träger von parasitisch lebenden Protozoen sind, und Reichenow konnte sogar nachweisen, daß solche Parasiten, wenn sie im allgemeinen auch nicht krankheitserregend erscheinen, unter Umständen pathogenwirkend werden können. Nach der ganzen Beschaffenheit der in unserem Falle vorgefundenen Gregarine handelt es sich um

Fig. 1.

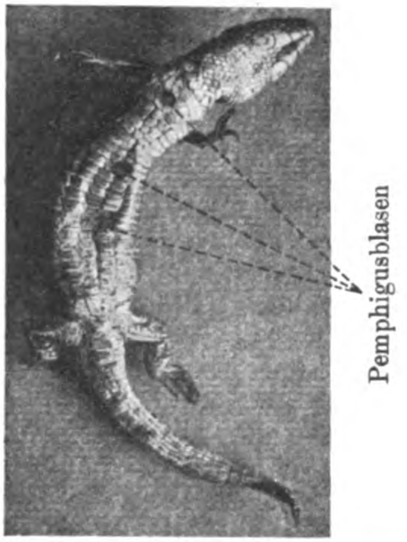


Fig. 2.

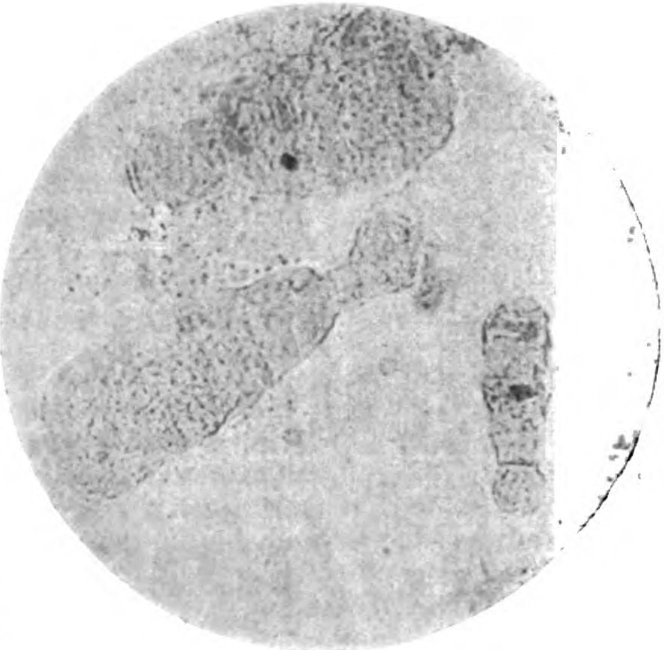


Fig. 1. Blasenbildungen in der Haut von Lacerta agilis L. auf Gregarineninfektion beruhend.

Fig. 2. Gregarinen aus dem Pustelinhalt.

---

1) Doflein, F., Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena 1909.

2) França, C., Sur les Hématozoaires des Sauriens. III. Hémogrégarines de „Lacerta muralis". (Arch. du Real. Inst. Bacter. Camara Pestana, T. 3. 1910.)

3) Marceau, F., Notes sur le Karyolysus lacertarum, parasite endoglobulaire du sang des lézards. (Arch. de Parasit. T. 4. 1901.)

4) Reichenow, E., Der Zeugungskreis von Karyolysus lacertae. (Sitzungsbericht d. Gesellsch. naturf. Freunde. Berlin. Jahrg. 1912. No. 9.) — Karyolysus lacertae, ein wirtswechselndes Coccidium der Eidechse Lacerta muralis und der Milbe Liponyssus saurarum. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd 45. 1915. H. 3.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Gregarina polymorpha, von der Fiebiger[1], Doflein, Braun[2] u. a. m. schreiben, daß sie nicht als pathogen zu betrachten sei. Bei Doflein finde ich wörtlich hierüber folgendes: „Die Gregarinen sind fast ausschließlich Darm- oder Leibeshöhlenparasiten bei niederen Tieren. Sie wurden bei Echinodermen, Würmern, Mollusken, Molluskoiden und Tunicaten, vor allem aber bei Anneliden und Arthropoden gefunden. In Vertebraten sind sie bisher nicht gefunden worden.“ „Ihren Wirten fügen sie, soweit es bis jetzt bekannt ist, keinen sonderlichen Schaden zu. Lebens- und Vermehrungsweise machen die meisten Formen nicht sehr geeignet zu Krankheitserregern“. Bei meinem Falle muß nun doch angenommen werden, daß die in so großer Zahl vorgefundene Gregarine der Erreger der Erkrankung bei Lacerta agilis L. gewesen sein muß, nachdem sonst jegliche Anhaltspunkte für die Enstehung der Krankheit fehlen. Welche Nebenumstände dabei noch mitgespielt haben, um die Gregarine pathogen werden zu lassen, entzieht sich mir bis jetzt noch der Beurteilung.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Differentialcharaktere zwischen Pediculus capitis de Geer und Pediculus corporis de Geer.

[Aus dem Institut für experimentelle Hygiene und Parasitologie an der Universität Lausanne (Dir. Prof. B. Galli-Valerio).]

Von **Dora Popoff-Tcherkasky,** Assistentin am Institut.

Mit 4 Figuren im Text.

In parasitologischen Werken sowohl wie in medizinischen Handbüchern fällt es oftmals schwer, richtige Angaben bezüglich der differentiellen Charaktere zwischen P. capitis und P. corporis zu finden. Manchmal begegnet man sogar kontradiktorischen Beschreibungen, und der Mediziner, dem gegebenenfalls Exemplare beider Arten vorliegen, ist oft in der schwierigen Lage, zu entscheiden, ob es sich um die eine oder andere Spezies handelt; seine Diagnose stellt er nicht selten, sich ausschließlich auf das Habitat stützend. Und dennoch sind in den älteren Beschreibungen der Pediculinen die Differentialcharaktere zwischen P. capitis und P. corporis schon zum Teil richtig angegeben.

So z. B. unterscheidet sich nach Giebel[3] P. corporis von P. capitis durch bedeutendere Dimensionen, durch längere Fühler und Beine, engeren Hals, durch weniger tiefe Einkerbungen zwischen den Abdominalsegmenten und durch schwächere Färbung der Körperränder. Desgleichen ist nach Piaget[4] P. corporis, der P. capitis sehr ähnelt, von diesem letzteren unterschieden durch seine größere Gestalt, durch die Kopfform, Länge der Fühler, durch die Abplattung der Segmente am Rande des Abdomens, durch die Gegenwart distinkter Flecke am Abdomen sowie durch die Abwesenheit der Borsten.

Neuerdings hat Fahrenholz[5] das Studium dieser zwei Läusearten wieder auf-

---

[1] Fiebiger, J., Die tierischen Parasiten der Haus- und Nutztiere. (Wien u. Leipzig 1912.)

[2] Braun, M., Die tierischen Parasiten des Menschen. Würzburg.

[3] Insecta epizoa. Leipzig 1874. p. 27.

[4] Les pédiculines. Leyde 1880. p. 620.

[5] 2., 3. u. 4. Jahresber. d. Niedersächs. Zoolog. Ver. Hannover (Zoolog. Abt. d. Naturhist. Gesellsch. Hannover). 1912.

genommen und ist zu analogen Ergebnissen gelangt. Nach diesem Autor ist P. corporis immer größer als P. capitis. Wenn man Männchen oder Weibchen der beiden Arten in bezug auf ihre Breite oder Länge miteinander vergleicht, beobachtet man, daß die größten Exemplare von P. capitis die Dimensionen der kleinsten Exemplare von P. corporis niemals erreichen. Ein anderer Unterschied ist in der Färbung gegeben: P. capitis ist mehr oder weniger grau, während P. corporis ungefarbt bleibt oder leicht weißlich erscheint. Die Einschnitte zwischen den Abdominalsegmenten sind bei P. capitis deutlicher ausgesprochen als bei P. corporis. Die Gonopoden bei den ♀ von P. corporis sind spitzer (und selbst leicht eingekrümmt), als bei den ♀ von P. capitis. Die ventrale Fläche des Abdomens von P. capitis ♀ ist mit größeren und zahlreicheren Borsten ausgestattet als die gleiche Fläche bei P. corporis ♀. Ein weiterer Unterschied wird beobachtet in bezug auf die Länge des Femur des ersten Beinpaares; dieselbe ist beträchtlicher bei P. corporis.

Demgegenüber stellt Neumann[1]) die Frage auf, ob bei Vergleich zwischen P. corporis und P. capitis es sich tatsächlich um 2 distinkte Spezies handelt. Dieser Forscher hatte keine Unterschiede gefunden, weder in bezug auf den Kopf, noch in bezug auf die Beine oder Dimensionen. Die Gestalt des Thorax bei P. corporis schien diesem Autor einige Besonderheit aufzuweisen: der Thorax ist breiter im Vergleich zu seiner Länge, namentlich nach vorn, gegenüber P. capitis. Die Einschnitte zwischen den Abdominalsegmenten sind weniger tief bei P. corporis als bei P. capitis. Was die Körpergröße anbetrifft, so hatte Neumann reife Exemplare von P. capitis von größeren Dimensionen als bei P. corporis gefunden. Sowohl die Kopfform wie die Länge der Fühler sind variabel in den untersuchten Serien von Läusen, und es läßt sich keine Differenz feststellen in der Verteilung von Borsten auf dem Abdomen bei beiden Arten. Neumann gelangt zu der Schlußfolgerung, daß P. corporis lediglich als eine Subspezies von P. capitis (P. capitis vestimenti) zu betrachten ist, weil beide Formen sich nur in bezug auf das Habitat von einander unterscheiden.

In Anbetracht der geschilderten Abweichung in der Beurteilung hatte mir Herr Prof. Galli-Valerio den Vorschlag gemacht, die Angaben der verschiedenen Autoren nachzuprüfen. Ich danke ihm hiermit herzlichst für die mannigfaltigen Ratschläge, die er mir während meiner Untersuchung zuteil werden ließ.

Meine Beobachtungen beziehen sich auf 229 Exemplare von P. corporis, gesammelt in Bulgarien auf türkischen Gefangenen, und 223 Exemplare von P. capitis, welche aus Lausanne stammen.

Was die Färbung anbetrifft, so habe ich keinen sehr scharf ausgesprochenen Unterschied gefunden, weshalb hier dieser Charakter von untergeordneter Bedeutung bei der Speziesdiagnose zu sein scheint. Je nach dem Grade der Vollgesogenheit erscheinen die beiden in Frage kommenden Spezies mehr oder weniger dunkel und die natürliche Farbe wird nur an den Körperrändern beobachtet. P. capitis ist von schwach grauer Farbe, während P. corporis gelblich erscheint, doch gibt es auch Uebergangsformen, welcher man schwerlich zu der einen oder der anderen Kategorie hinzuzählen könnte. Einige Exemplare von P. capitis, welche Herr Dr. Steiner auf Kindern von Soerabaya (Java) gesammelt hatte, zeigen sehr dunkle, grau-schwarze Farbe, was den bereits von Murray[2]) erwähnten Gedanken bestätigt, P. capitis passe sich der Hautfarbe seines Wirtes an.

Auf den ersten Blick scheint P. corporis viel größer zu sein als P. capitis, doch bei genauerer Prüfung überzeugt man sich, daß dieser Charakter bei weitem nicht konstant ist. Die Resultate dieser Messungen sind:

P. capitis	♂	$2^1/_4$—$2^3/_4$—3	mm
„ „	♀	$2^3/_4$—$3^1/_4$—4	„
P. corporis	♂	$2^3/_4$—$3^1/_2$—$3^3/_4$	„
„ „	♀	3—4—$4^3/_4$	„

---

[1]) Arch. de parasit. T. 14. 1911. p. 401.

[2]) Nach Piaget, loc. cit. p. 622.

Diese Dimensionen bezeichnen die Länge bei kleinsten, mittleren und größten Exemplaren in beiden Geschlechtern von P. capitis und P. corporis. Ich füge hinzu, daß die Messungen vorgenommen waren an Exemplaren, die ich zwischen 2 Objektträgern leicht gepreßt hatte, Nach dem Vorstehenden gibt es somit reife P. corporis von kleineren Dimensionen als reife P. capitis. Demnach stimmen meine Beobachtungen nicht mit denjenigen von Fahrenholz[1]) überein, nach dessen Angaben die größten Exemplare von P. capitis immerhin kleiner sind als die kleinsten von P. corporis.

Bezüglich der Exemplare von P. capitis aus Soerabaya hebe ich überdies hervor, daß dieselben eine bedeutende Körpergröße aufwiesen: so waren 2 ♂ 3³/₄ mm lang, und von 2 ♀ maß das eine 4,5 mm, das andere 4 mm.

Was bei mikroskopischer Untersuchung der beiden Spezies besonders auffällt, das ist die bedeutendere Länge der Fühler bei P. corporis (Fig. 1). Alle Glieder der Fühler sind länger. In seiner Zusammenstellung der Differentialcharaktere in bezug auf P. capitis und P. corporis führt Fahrenholz[2]) diesen unterscheidenden Charakter nicht an, und dennoch folgt er aus seinen Messungen in klarer Weise. So wird angegeben: P. capitis ♂, Länge der Fühler = 0,29 mm; P. corporis ♂ = 0,43 mm; P. capitis ♀ = 0,32 mm; P. corporis ♀ = 0,40 mm.

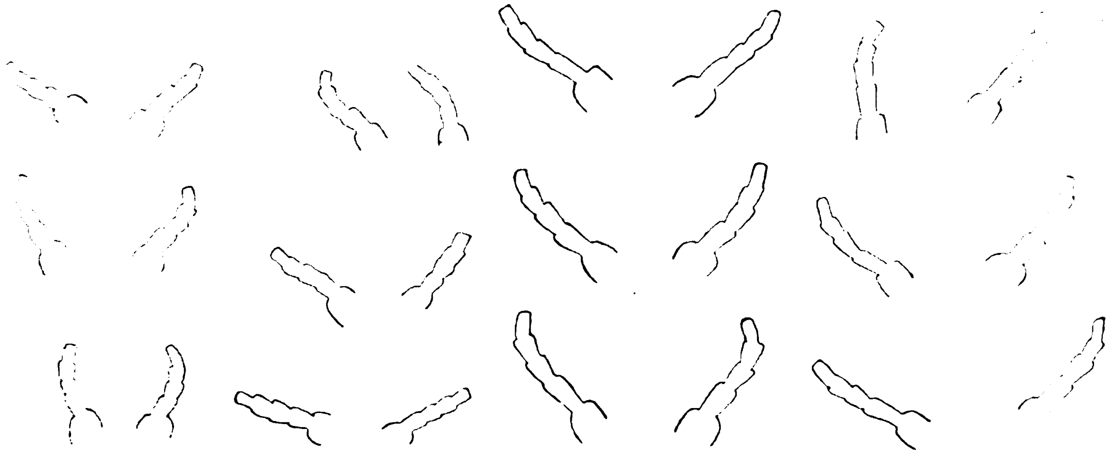


Fig. 1. P. capitis ♂. Fig. 2. P. capitis ♀. Fig. 3. P. vestimenti ♂. Fig. 4. P. vestimenti ♀.

Fig. 1—4. Schematische Zeichnungen der Fühler. Zeichenokul. Leitz, Obj. 3, gesenkter Tubus 5.

Somit weisen die Fühler einen ziemlich bedeutenden Unterschied in ihrer Länge auf, und diese Eigenschaft erscheint mir am wichtigsten für die zu stellende Speziesdiagnose. Die Exemplare von P. capitis aus Soerabaya zeigten, trotz ihrer eher ansehnlichen Körpergröße, kürzere Fühler als bei P. corporis.

Ich kann das Vorhandensein eines wichtigen, bereits von Fahrenholz signalisierten Differentialcharakters[3]) bestätigen. Das Femur des

---

[1]) loc. cit. p. 5.
[2]) loc. cit. p. 4.
[3]) loc. cit. p. 5.

1. Beinpaares ist länger bei P. corporis als bei P. capitis. Diese Tatsache wiederholt sich bei beiden Geschlechtern und ist unabhängig von der Körpergröße. Das gesamte Bein erscheint demnach gedrungener bei P. capitis als bei P. corporis. Dieser Charakter wurde in übereinstimmender Weise auch bei Exemplaren von P. capitis aus Soerabaya beobachtet, trotz der bedeutenden Körpergröße in diesem Fall.

Bezüglich der Kopfform ist kein Unterschied festzustellen.

Wohl findet man gewisse Exemplare von P. capitis mit einem schmäleren Hals, als in manchen Exemplaren von P. corporis. Außerdem erscheint bei dieser letzteren Art die Implantationsfläche des Kopfes im allgemeinen breiter; doch ist dieser Charakter bei weitem nicht konstant und desgleichen kann man P. corporis mit genau so verengertem Hals beobachten wie bei P. capitis. Ferner läßt sich kein Unterschied in bezug auf den Thorax konstatieren.

Das bei beiden Spezies aus 7 Gliedern zusammengesetzte Abdomen zeigt im allgemeinen tiefere Einschnitte bei P. capitis, doch ist dieser Charakter nicht immer sehr ausgesprochen. In der Tat gibt es Uebergangsformen, wo man eine Differenz kaum wahrnimmt. Eine Abplattung der seitlichen Ränder der Abdominalsegmente bei P. corporis habe ich nicht beobachtet, ich finde dieselben mehr oder weniger vorspringend bei beiden Spezies. Demgegenüber waren bei Exemplaren von P. capitis aus Soerabaya die Segmentränder abgeplattet und die Einschnitte sehr wenig tief.

Was die durch Fahrenholz hervorgehobenen[1]) Differentialcharaktere der Gonopoden bei den ♀ von P. corporis resp. P. capitis anbetrifft, so konnte ich dieselben auf den zahlreichen mir vorliegenden Exemplaren nicht in einer konstanten Weise wiederfinden. In der Tat, die Form der Gonopoden scheint hier variabel zu sein: Sie sind bald abgerundet, bald zugespitzt, doch bezieht sich das auf beide Spezies.

Zum Schluß bleibt es mir nur übrig, zwei Worte zu sagen über die Unterschiede in der Verteilung und der Länge von Borsten auf der ventralen Fläche des Abdomens von P. capitis ♀ und P. corporis ♀ nach Angaben von Fahrenholz[2]). Das Studium der Verteilung von Borsten ist oftmals nicht leicht. Auf vollgesogenen Exemplaren verhindert die tiefrote Färbung des Abdomens, die Borsten zu sehen; schon aus diesem Grunde erscheint der erwähnte Charakter von wenig Belang für die Speziesdiagnose. Im übrigen aber, in allen Fällen, wo die Borsten leicht sichtbar waren, habe ich keinen ausgesprochenen Unterschied zwischen den beiden Spezies konstatiert. Die Borsten sind mehr oder weniger zahlreich, je nach den verschiedenen Exemplaren unabhängig von der Artzugehörigkeit. Ich bemerke weiter, daß P. capitis aus Soerabaya mit zahlreichen und sehr starken Borsten auf der Ventral- und Dorsalfläche des Abdomens versehen war.

Ich stelle tabellarisch zusammen die Differentialcharaktere zwischen P. capitis und P. corporis nach den in der Literatur vorliegenden Angaben. Diejenigen Charaktere, welche nach meinen Beobachtungen als besonders typisch und konstant anzusprechen sind, hebe ich durch Sperrdruck hervor.

---

[1]) loc. cit. p. 5.
[2]) loc. cit. p. 7.

P. capitis.	P. corporis.
1. Färbung ins Graue fallend.	Färbung gelblich oder ungefärbt.
2. Kleinere Dimensionen.	Größere Dimensionen.
3. Kürzere Fühler.	Längere Fühler.
4. Engerer Hals.	Breiterer Hals.
5. Thorax nach vorn verschmälert im Verhältnis zu seiner Länge.	Thorax nach vorn verbreitert im Verhältnis zu seiner Länge.
6. Kürzere Beine.	Längere Beine.
7. Femur des 1. Beinpaares relativ kurz.	Femur des 1. Beinpaares relativ lang.
8. Die Ränder der Abdominalsegmente vorspringend.	Die Ränder der Abdominalsegmente abgeplattet.
9. Tiefere Einschnitte zwischen den Abdominalsegmenten.	Weniger tiefe Einschnitte zwischen den Abdominalsegmenten.
10. ♀ mit abgerundeten Gonopoden.	♀ mit zugespitzten Gonopoden.
11. Borsten groß und zahlreich auf der Ventralfläche des Abdomens des ♀.	Borsten klein und weniger zahlreich auf der Ventralfläche des Abdomens des ♀.

Zusammenfassung.

P. corporis und P. capitis bilden zwei außerordentlich nahe verwandte Arten. Man kann vermuten, daß auf dem Menschen ursprünglich eine einzige Spezies von Läusen parasitiert hatte, welche sich in der Folge in 2 Spezies differenzierte, und zwar durch Anpassung an ein besonderes Habitat. Die einzigen konstanten Unterscheidungsmerkmale sind: die größere Länge der Fühler sowie des Femur am 1. Beinpaar bei P. corporis gegenüber den gleichen Teilen von P. capitis.

Lausanne, 9. Juli 1914.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Biologie und zur Bekämpfung der Läuse.

3. Mitteilung.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio.**

Wie in meinen früheren Mitteilungen[1]), habe ich mit P. cervicalis experimentiert.

Um viele Läuse leicht und schnell zu sammeln, wenn man es mit ganz zerschnittenem Frauenhaare zu tun hat, ist es sehr zu empfehlen, die Haare mit einem Stück Gaze zu bedecken. Die Läuse fixieren sich dann auf der Gaze und man kann sie dann sehr leicht und ohne sie zu beschädigen, mit einer kleinen Zange sammeln.

Nach Hase[2]) erfolgt das Auskriechen der Eier von P. vestimenti bei 30°—35° nach 6—7, bei 25°—30° nach 8—10 Tagen; bei 10°—20° erfolgt auch nach 21 Tagen kein Auskriechen mehr. Ich habe Haare, die mit Nissen von P. cervicalis ganz bedeckt waren, bei 19°—20° liegenlassen. Einige Eier sind nach 8 Tagen ausgekrochen.

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77 1915. p. 262, und Bd. 78. 1916. p. 37.

[2]) Beiträge zu einer Biologie der Kleiderlaus. Berlin. 1915. p. 22.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Es scheint also, daß Haare mit Nissen von Kopfläusen auch bei Zimmertemperatur für die Läuseverbreitung als gefährlich zu betrachten sind.

Nach den Experimenten von Nicolle, Blaizot und Conseil, v. Prowazek, Sikora und Galli-Valerio können die Menschenläuse auch an verschiedenen Tieren saugen; um aber festzustellen, ob es möglich ist, diese Läuse an Tiere zu gewöhnen, habe ich in eine Kiste sehr viele Haare, die ganz mit Kopfläusen und Nissen bedeckt waren, und eine weiße Maus gebracht. Einen Monat lang hab ich dann die Maus untersucht, konnte aber nie weder Läuse noch Nisse auf ihrem Körper finden.

Ein serbischer Arzt hat mir erzählt, daß er beobachtet habe, daß Kleiderläuse nicht gern auf schwarze Farben gehen, und daß schwarze Kleider einen Schutz gegen diese Parasiten bieten. Haben nun auch Kopfläuse eine solche Empfindlichkeit für Farbe?

Ich habe, um das festzustellen, Kopfläuse in eine große Glasschale gesetzt, unter die ich Stücke von Papier von verschiedenen Farben gelegt und dann verschiedene Male am Tage die Läuse auf den verschiedenen Farben gezählt habe, und zwar mit folgenden Resultaten:

Grau-grün	34	Rot	4
Weiß	10	Rosa	2
Dunkelgelb	7	Blau	1
Hellgrün	6	Hellgelb	0
Dunkelgrau	5	Schwarz	0

Nach diesem einzigen Experimente scheint es mir sehr schwer, zu entscheiden, ob in der Tat die Kopfläuse eine Empfindlichkeit für die Farben haben: Wenn ich keine Läuse auf Schwarz gefunden habe, so waren auch keine auf Hellgelb, dagegen viele auf einer dunkeln Farbe (grau-grün). Da die Läuse den ganzen Tag in Bewegung sind, so glaube ich, meine Resultate mehr dem Zufall als einer Farbenempfindlichkeit zuschreiben zu müssen. Ferner habe ich einige neue Substanzen gegen Läusestich erprobt. Wie in meiner ersten Mitteilung, habe ich auch hier die verschiedenen Substanzen auf meinen Vorderarm gebracht und ganz in ihre Nähe die Läuse gesetzt. Die Ergebnisse finden sich in folgender Tabelle[1]).

Substanzen	Stich			Gestorben
	auf der Substanz	am Rande der Substanz	in der Nähe der Substanz	
Antiinsecta (eine nach Menthol stark riechende Substanz)	×	×	×	
Pfeffer	×	×	×	
Sulfur praecipitatum	×	×	×	
Basisches Nikotin (12-proz.)	—	—	—	+

Also ist die einzige Substanz, die mich gegen den Läusestich geschützt hat, das basische Nikotin. Es ist ein rotgelbes, nach Tabak riechendes Pulver, das mir Herr Mountet aus Vevey geschickt hat. Antiinsecta ist als Mittel, den Schmerz des Insektenstiches zu stillen, sehr zu empfehlen; wie ich bemerkt habe, stillt diese Substanz 1 Stunde lang den Schmerz.

Ferner habe ich neue Untersuchungen gemacht, um Kopfläuse durch verschiedene Substanzen zu vernichten.

Wie in meiner 2. Mitteilung, habe ich die Tiere in kleine, bedeckte Gläser von 21 ccm Inhalt mit der zu prüfenden Substanz (Pulver, Flüssig-

---

1) × Stich, — kein Stich, + gestorben.

keit oder mit riechendem Stoff imprägnierte Baumwolle) gesetzt. Wenn die Läuse bewegungslos geworden waren, setzte ich sie auf Fließpapier, um zu sehen, ob sie wirklich gestorben oder nur betäubt waren.

Die folgende Tabelle zeigt die Resultate:

Substanzen	Resultate (+ gestorben)
a) **Riechende Substanzen**	
Nitrobenzol	+ nach $^1/_2$ Std.
b) **Pulver**	
Sulfur praecipitatum	+ nach 3 Tagen wie die Kontrolle
Pfeffer	+ nach 24 Std.
Basisches Nikotin (12-proz.)	+ nach 10 Min.
c) **Flüssigkeiten**	
Sonnenblumenöl	+ nach 20-30 Min.
Colzaöl	+ „ 15 „
Klauenöl	+ „ 7 „
Dippelsches Oel	+ „ 3 „
Kadeöl	+ „ 5 „
Sesamöl	+ „ 20—25 „
Lebertran	+ „ 20—25 „
Rizinusöl	+ „ 5 „
Olivenöl	+ „ 2 „
Baumwollsamenöl	+ „ 20—25 „
Nußöl	+ „ 2 „
Mohnöl	+ „ 13 „

Substanzen	Resultate (+ gestorben)
Arachisöl	+ nach 7 Min.
Paraffinöl	+ „ 3—5 „
Gelbes Vaselinöl	+ „ 3—5 „
Grünes Schieferöl	+ „ 10 „
Saprol	+ „ 1—6 „
Petroleum	+ „ 3—5 „
Glyzerin	+ „ 2 Std.
Ac. carbol liq. (90-proz.)	+ „ 3 Min.
Lysol. pur.	+ „ 2 „
Nicotin sulfur. (11,2-proz.)	+ „ 1 Std.
Id. ää mit Wasser	+ „ 1,20 „
Id. 10 Teil. + 90 Teil. Wasser	+ „ 2 „
Id. 5 Teil. + 95 Teil. Wasser	+ „ 2 „
Basisches Nikotin (12-proz.) 50 Proz.	+ „ 10 Min.
Id. 20-proz.	+ „ 45 „
Id. 10-proz.	+ „ $1^1/_2$ Std.
Id. 5-proz.	+ „ 2 „
Id. 1-proz.	+ „ 3—4 „

Aus dieser Tabelle ersehen wir, daß fette Oele die Kopfläuse sehr schnell vernichten, und zwar tun dies schneller die dicken als die flüssigen Oele, weil die ersten besser auf dem Läusekörper kleben. Sehr schnell wirken auch Saprol, Petroleum usw. Basisches Nikotin wirkt auch sehr gut, aber es ist dabei zu bemerken, daß diese Lösung breiförmig ist und daher die Läuse mit Nikotinstaub bedeckt sind.

Zusammenfassung.

1) Man kann Kopfläuse nicht daran gewöhnen, auf weißen Mäusen zu leben.

2) Eine anlockende Wirkung der Farben auf Kopfläuse konnte ich nicht sicher feststellen.

3) Basisches Nikotin in Pulverform kann gegen Läusestich schützen.

4) Fette Oele, Saprol, Petroleum, Nikotin in Pulverform usw. wirken sehr schnell tödlich.

Lausanne, den 11. September 1916.

Nachdruck verboten

Kritische Studien über Morphologie und Züchtung von filtrierbaren Virusarten.

[Aus der Protozoenabteilung des Kgl. Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch“.]

Von Dr. **Huntemüller,** früherem Assistenten des Instituts.

Mit 3 Figuren im Text.

Bei einer Reihe von infektiösen Krankheiten, deren Virus filtrierbar ist, sind in den letzten Jahren kleinste Körperchen als die mutmaßlichen Erreger von verschiedenen Autoren beschrieben worden. Bei Variolavaccine gibt Fornet an, diese Gebilde gezüchtet zu haben. Mehrjährige Beschäftigung mit diesen filtrierbaren Virusarten haben mir gezeigt, welche Vorsicht bei der Beurteilung der erwähnten Köperchen geboten ist, und so hoffe ich, daß die hier mitgeteilten kritischen Untersuchungen nicht ohne Nutzen sein mögen für die weitere Forschung auf diesem schwierigen Gebiete.

Zu der Frage der „Reinkultur des Pockenerregers“ habe ich schon verschiedentlich in der Diskussion zu Fornets Vorträgen auf dem Naturforscherkongreß in Wien und in der Berliner Mikrobiologischen Gesellschaft Stellung genommen und möchte hier meine dortigen kurzen Ausführungen noch eingehender erörtern.

Fornet schüttelte vom Kalbe gewonnene, frische Rohlymphe 20 Stunden und länger mit Aether; dadurch sollen die fremden Keime abgetötet werden, während das Vaccinevirus seine Wirksamkeit nicht einbüßt. Das so bakterienfrei gemachte Ausgangsmaterial wurde auf Reagenzröhrchen verimpft, die Rinderserumbouillon (in der Verdünnung von 1 Teil Serum auf 4 Teile Bouillon) enthielt. Die Kulturröhrchen wurden in Wasserstoffatmosphäre gehalten, nachdem ihnen zur besseren Anaërobiose ein Stückchen Platinschwamm zugesetzt war.

Nach 5—6 Tagen trat in den Röhrchen ein feiner Bodensatz auf, der sich auch bei Weiterimpfung von Reagenzglas zu Reagenzglas feststellen ließ. Uebertragungen auf Tiere hatten in der 5. und 11. Passage ein positives Resultat; doch sind diese Tierversuche nicht einwandfrei, da sie in Ställen gemacht sind, die mit Vaccine verseucht waren und so eine Spontaninfektion nicht auszuschließen ist.

Mikroskopisch fanden sich kleine, runde, meist zu zweien liegende, durch deutlich sichtbare, feine Fäden verbundene Körperchen, die Fornet für die fraglichen Erreger hält und mit dem Namen Microsoma vaccinae belegt.

Bei meinen Untersuchungen über die Maul- und Klauenseuche hatte ich in frischem Aphtheninhalt kleine, runde Körperchen von Kokkengröße und daneben kleinste, kuglige Gebilde an der Grenze der Sichtbarkeit beobachten können, die meistens zu zweien lagen und durch ein feines Fädchen verbunden waren. Die größeren Kügelchen zeigten in ihrem Innern oft ein stärker lichtbrechendes Korn, das sich in der Kugel deutlich herumbewegte.

In einem Berkefeld-Filtrat, das nach Zusatz von etwa der 5-fachen Menge Bouillon zu der Aphthenlymphe gewonnen war, fehlten zunächst die größeren Kugeln, während die zuletzt beschriebenen Gebilde ziemlich zahlreich vorhanden waren. Als ein Teil des Berkefeld-Filtrates, nach dem Vorgange v. Prowazeks, durch ein Ultrafilter geschickt wurde, fanden sich in dem Filterrückstande nur die kleineren Körperchen. Nach einigen Tagen (das Berkefeld-Filtrat hatte während dieser Zeit im Dunkeln bei Zimmertemperatur, 24° C, gestanden) ließen sich auch wieder größere Kugeln nachweisen. Diese größeren Kugeln mußten erst in dem bakteriologisch sterilen Filtrat entstanden sein, zumal sie schon zu groß waren, um das Porenvolumen des Berkefeld-Filtrates passieren zu können.

Fig. 1.

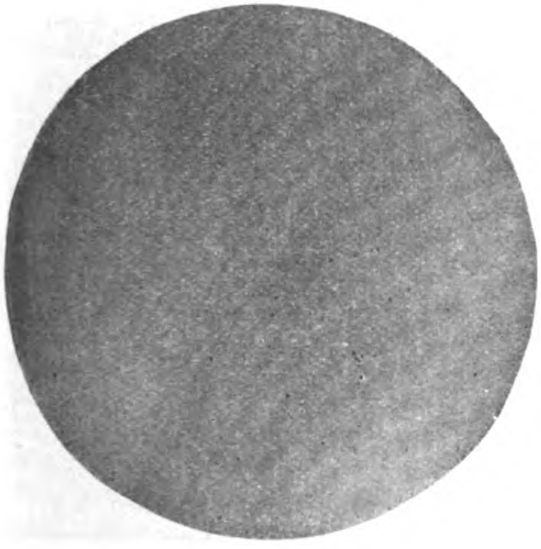


Fig. 2.

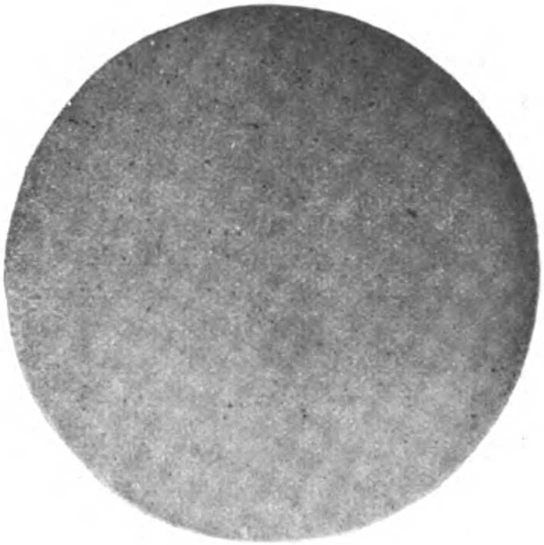


Fig. 3.

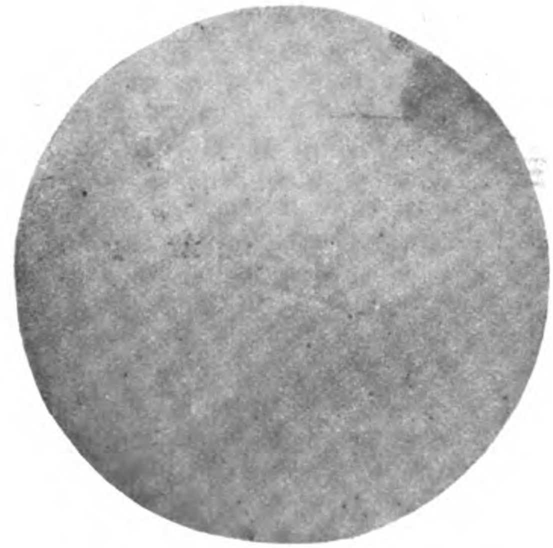


Fig. 1. Kleine Körperchen aus Aphthenmaterial von Maul- und Klauenseuche. Vergr. 1 : 1000.

Fig. 2. Körperchen aus steriler Serumbouillon nach 6-tägigem Aufenthalt bei 37° C. Vergr. 1 : 1000.

Fig. 3. Körperchen aus Serumbouillon gewonnen durch Alkoholausfällung. Vergr. 1 : 1000.

Um nun das Entstehen dieser größeren Gebilde beobachten zu können, wurde ein heizbarer Objekttisch in Benutzung genommen. Diese Beobachtung gelang zwar nicht, doch konnte man deutlich erkennen, wie in den größeren Kugeln plötzlich ein stark lichtbrechendes Korn auftrat, das sich dann in der Kugel herumbewegte Bald darauf zerfiel diese in 2 Teile, die sich nun ihrerseits wieder teilten, und nach einiger Zeit konnte man einzelne, sowie 2, 3, 4 und zuweilen auch mehr stark lichtbrechende Punkte, von einem hellen Hof umschlossen, sehen. Wenn diese Körperchen sich voneinander losrissen, waren sie nicht von den oben erwähnten kleinen Gebilden zu unterscheiden.

Es hatte also eine Vermehrung durch Zweiteilung stattgefunden, wie wir es bei den niederen Organismen zu sehen gewohnt sind, und ich zweifelte zunächst nicht daran, daß wir es mit dem lange gesuchten Erreger zu tun hatten.

Wenn aber auf dem geheizten Objekttisch eine Vermehrung stattfand, so mußte auch die Kultur des Mikroorganismus im Reagenzglase gelingen! —

Die Kultur wurde in gleicher Weise, wie oben das Filtrat angegeben, hergestellt, d. h. 1 Teil Aphtheninhalt wurde mit 5 Teilen Bouillon vermischt und durch ein Berkefeld-Filter Nr. 5 geschickt. Das Filtrat wurde steril in ein Reagenzröhrchen abgefüllt und bei 37° im Brutschrank gehalten. Das Röhrchen war anfangs völlig klar, erst nach mehreren Tagen zeigte sich beim Schütteln eine leichte Trübung, die nicht vom Bakterienwachstum herrührte. Von dem Bodensatz wurde eine Oese auf eine große Serie von Röhrchen verimpft, die Rinderserumbouillon (1 Teil Serum auf 5 Teile Bouillon) enthielten. Nach mehrtägigem Aufenthalt bei 37° zeigte sich ein feiner Bodensatz; doch auch die unbeimpften Kontrollröhrchen ergaben denselben Befund. In ihnen konnte man in vielfach wiederholten Versuchen ganz ähnliche Gebilde nachweisen, wie ich sie oben aus dem Aphtheninhalt beschrieben habe und wie sie Fornet in seinen Kulturen beschreibt. Auch aus Pferde-, Schweine- und menschlichem Serum lassen sich die gleichen, runden Körperchen erhalten.

Seiffert (5) konnte in einer kürzlich erschienenen Arbeit aus der Münchener Zentralimpfanstalt meine hier erörterten Befunde bestätigen. Auch er konnte die von Fornet beschriebenen Gebilde in den Kulturen nachweisen, doch gaben die Kontrollkulturen die gleichen Befunde.

Um was handelt es sich nun bei diesen Gebilden?

Es könnten kleinste, saprophytische Organismen sein, die aus den Seren stammten und die sich in den Kulturen vermehrt hatten. Diese an sich nicht unwahrscheinliche Annahme wird dadurch entkräftet, daß es gelingt, wie ich schon oben anführte, derartige Gebilde durch leichtes Erwärmen und Alkoholzusatz aus der Serumbouillon zu erhalten, neben amorphen, flockenartigen Ausfällungen.

In der Serumbouillon haben wir nun eine kolloidale Eiweißlösung. Die dispersen Eiweißteilchen sind zunächst von einer so geringen Größe, daß sie auch im Ultramikroskop nicht mehr wahrgenommen werden können; sie sind nach der von Siedentopf und Zigmondy eingeführten Nomenklatur amikroskopisch. Bei der Koagulation vergrößern sich nun diese kleinsten Teilchen, wachsen, ähnlich wie die Kristalle, in einer übersättigten Lösung bis oberhalb der Grenze der mikroskopischen Auflösbarkeit, oder aber sie vereinigen sich unter Erhaltung ihrer Individualität durch Aneinanderlagerung zu größeren Teilchenkomplexen und fallen zu Boden. Welche von den beiden Möglichkeiten in einem konkreten Falle eintritt, läßt sich nicht sagen. Doch wird das letztere hauptsächlich der Fall sein, wenn die Koagulation (durch Erwärmen, Alkoholzusatz) sehr schnell eintritt, so daß es nicht zu einer Vergrößerung der dispersen Teilchen kommt, sondern diese in Gestalt eines amorphen, flockigen Bodensatzes zur Ausfällung gelangen.

Ganz ähnliche Verhältnisse finden wir ja bei den Kristalloiden. Auch hier pflegen sich die Kristalle nur bei langsamen Wachstumsbedingungen zu bilden, während der Niederschlag bei schneller Ausfällung amorph erscheint. Aber noch weitere Analoga mit den kristallinischen Systemen lassen sich finden, und besonders sind es die „flüssigen Kristalle“ von O. **Lehmann**, die mit dem oben beschriebenen Gebilde Aehnlichkeit haben. Da wir es hier mit einem flüssigen, kolloidalen System zu tun haben, so müssen die dispersen Teilchen infolge der Oberflächenspannung Kugelgestalt annehmen; ein Gesetz, das durch **Plateaus** Versuch (ein Oeltropfen freischwebend in verdünntem Alkohol) ja so vorzüglich demonstriert wird. Beim Uebergang in den Gelzustand ordnen sich bei den Kristallen die Moleküle in der Richtung der Hauptachse, und es kommt so zu der regelmäßigen Kristallform. Die sehr kompliziert zusammengesetzten Moleküle der Eiweißkörper haben dagegen wohl keine vorherrschende Richtungsachse, und es bleibt daher beim Erstarren die Kugelgestalt gewahrt.

Doch nicht nur die Kugelgestalt, sondern auch Teilungsvorgänge haben die flüssigen Kristalle mit unseren Gebilden gemeinsam. Denn die **Lehmann**schen Kristallkügelchen können sich „wie Bakterien von selbst teilen in 2 oder mehr Teile, die nun selbst wieder sich als vollkommene Individuen verhalten, weiterwachsen und sich teilen“.

Damit haben wir ganz analoge Vorgänge wie bei den Lebewesen gefunden, und **Lehmann** betitelt ja auch seine kleine Schrift über diesen Gegenstand „Flüssige Kristalle und die Theorie des Lebens“.

Die belebte wie die unbelebte Materie muß den physikalischen Gesetzen folgen. Bei den niedersten Lebewesen, die noch keinen komplizierten Bau besitzen, werden wir diese Gesetzmäßigkeit noch am klarsten ausgeprägt finden und dürfen uns daher andererseits nicht wundern, daß dort beobachtete Vorgänge bei unbelebten Gebilden wiederzufinden sind. So kann man auf dem geheizten Objektträger bei den größeren ausgefallenen Kolloidkügelchen deutlich beobachten, wie in ihrem Innern plötzlich ein stark lichtbrechendes Korn auftritt. Nach einiger Zeit teilt sich das Korn in 2 Teile, die durch ein oft deutlich sichtbares Fädchen verbunden sind, ähnlich einer Centrodesmose bei der Teilung des Protozoenkernes. Dieses Fädchen bleibt häufig nach der sich anschließenden Teilung der größeren Kugel bestehen, und wir bekommen dann eine Hantelform. Bei der Teilung schnüren sich nicht immer gleichgroße Stücke ab. Man sieht manchmal auch ein größeres und ein kleineres Kügelchen durch ein feines Fädchen zusammenhängen.

Nun sind bekanntlich von **Borrel**, v. **Prowazek**, **Paschen**, **Lipschütz** u. a. beim Epithelioma contagiosum, bei Variola vaccinae und Molluscum contagiosum Gebilde beschrieben und als die Erreger angesprochen worden, die sogenannten Elementarkörper, die sich von den von mir beschriebenen kolloidalen Gebilden nicht unterscheiden lassen.

Morphologisch gleichen diese Elementarkörperchen ganz den oben beschriebenen Kolloidgranula; auch einen hellen Hof, auf den **Paschen** besonderes Gewicht legt, kann man bei beiden häufig in gefärbten und ungefärbten Präparaten wahrnehmen.

v. **Prowazek** sowie **Paschen** heben besonders die gleichmäßige Größe der von ihnen beschriebenen Körperchen hervor gegenüber der verschiedenen Größe der Kolloidgranula. Nun ist die Größe der Eiweißgranula abhängig von der Konzentration der betreffenden Eiweißlösung. Je stärker die Konzentration, um so größer werden die zur Ausfällung kommenden Granula. Da nun die Konzentration der Lösung infolge der stattgehabten Ausfällungen stets abnimmt, so werden die anfangs zur Ausfällung gekommenen Kügelchen stets größer sein als die späteren, und so erklärt sich die wechselnde Größe der Kolloidgranula in den künstlichen Kulturen. Der Eiweißgehalt der Lymphe im lebenden Körper wird dagegen bei stattgehabter Ausfällung stets ersetzt, und bei der sich stets gleichbleibenden Konzentration werden auch gleichgroße Granula heranwachsen können. Die absolute Größe dieser Gebilde ist auch bei den Befunden von v. Prowazek und Paschen verschieden, und v. Prowazek glaubte zunächst, eben wegen dieser Größendifferenz, daß die von ihm beschriebenen Körperchen mit den Paschenschen Körperchen nicht identisch seien.

Färberisch konnte bislang auch kein Unterschied gegenüber den Angaben von Lipschütz und v. Prowazek gefunden werden. Gut darstellbar sind die Gebilde nur nach der Loefflerschen Geißelmethode. Nach Romanowsky, resp. Giemsa färben sich die Körperchen schlecht, auch bei längerer Färbedauer nur schwach rot; etwas besser sind sie mit konzentrierter Karbolfuchsinlösung nach Ziehl und nach Heidenhain färbbar. Nach Gram sind sie nicht darstellbar, mit Thionin nur bei langer Färbedauer, dagegen nicht mit Neutralrot und Brillantcresylblau.

Einlegen in Kochsalzlösung und destilliertes Wasser ist ohne Einfluß auf ihre Färbbarkeit. Durch Alkohol, Aether, Chloroform werden sie nicht zerstört, ebensowenig durch Einlegen in 2-proz. Kalilauge, in 2-proz. Essigsäure, je ½ Stunde nach der von Paschen geübten Trockenfixierung mit nachfolgender Alkoholhärtung.

Die von v. Prowazek und Halberstädter beim Trachom beschriebenen Elementarkörperchen, die morphologisch den Kolloidgranula gleichen, verhalten sich den Farbstoffen gegenüber anders, und ich möchte sie daher aus dem Bereiche meiner Betrachtungen lassen.

Durch die morphologische und färberische Uebereinstimmung dieser Gebilde ist nun keineswegs gesagt, daß die von den oben genannten Autoren beschriebenen Körperchen nicht als die Erreger der betreffenden Infektionskrankheiten in Betracht kommen; es ist sehr wohl möglich, daß wir es hier mit dem belebten Virus zu tun haben, doch steht der Beweis noch aus. Vielleicht bringen gerade derartige vergleichende Untersuchungen über diesen Punkt Klarheit und verhüten, daß bei Kulturversuchen mit filtrierbaren Infektionserregern jedes morphologisch differenzierbare Gebilde, selbst wenn sich eine Vermehrung feststellen lassen sollte, als der fragliche Erreger angesprochen wird.

Schlußsätze.

1) Die von Fornet gezüchteten und als Microsoma variolae seu vaccinae beschriebenen Gebilde sind identisch mit Kolloidgranula.

2) Die von Borrel, v. Prowazek, Paschen, Lipschütz beim Epithelioma contagiosum, bei Variola vaccine und Molluscum contagiosum beschriebenen Körperchen sind weder morphologisch, noch färberisch vom Kolloidgranula zu unterscheiden.

Literatur.

1) Fornet, Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 40.
2) v. Prowazek, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. 1914; Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amt. 1905. 1906. 1907.
3) — u. de Beaurepaire, München. med. Wochenschr. 1908.
4) Paschen, in Kraus-Levaditi, Handb. der Immunitätsforschung. Ergänzungsband 1. 1911.
5) Seiffert, München. med. Wochenschr. 1914. No. 17.
6) Schwann, O., Ueber das Wachstum der Kristalle. Freiburg i. B. 1897.
7) — Flüssige Kristalle und die Theorie des Lebens. Leipzig 1906.

Nachdruck verboten.

Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]
Von **B. Galli-Valerio**, Lausanne.

Mit 6 Figuren im Text.

A. Parasitologische Untersuchungen.

I. Geographische Verbreitung einiger Parasiten.

1. Monocystis lumbrici Henle, Lumbricus terrestris (Samenblasen), Vidy (Lausanne), am 14. März 1916, Galli.

2. Pneumocystis carinii Del. weiße Ratte und Mus rattus (Lungen), Lausanne, Juli bis Oktober 1916, Galli. Nur bei 2 von vielen untersuchten Ratten gefunden.

3. Herpetomonas calliphorae Swingle, Calliphora vomitoria (Darm), Lausanne, 12. Juni 1915. Galli.

4. H. scatophagae Galli-Valerio, Scatophaga stercoraria (Darm), Haut Darbignon (1700 m, Wallis), 28. Juni bis 28. Juli 1915, Galli. Diese Art, die ich bis jetzt nur im Jura gefunden hatte[1]), habe ich im letzten Jahre bei 8 unter 68 Stück S. stercoraria, die Dr. Bornand mir aus den Alpen geschickt hatte, gefunden. Da die Scatophagen auf Rinderkot leben, so habe ich in diesem nach ähnlichen Flagellaten gesucht, aber vergebens. Es ist nun fraglich, ob H. scatophagae nicht eine Entwickelungsform der Flagellaten ist, die in Rinderblutkulturen sich entwickeln und die, nach Behn[2]), nicht aus Trypanosoma Franki, sondern aus präflagellaten Stadien, zum Teil als endoleukocytäre Formen, stammen. Es ist nicht auszuschließen, daß diese endoleukocytären Formen, ähnlich wie Beitzke[3]) es für die im Blute kreisenden Bakterien nachgewiesen hat, ins Darmlumen wandern, mit dem Kot weggeschafft werden und die Scatophagae infizieren, die dann die Flagellaten wieder auf den Weiden verbreiten. Um festzustellen, ob H. scatophagae für Wirbeltiere pathogen ist, habe ich eine bunte Ratte, eine weiße Maus, einen Mus sylvaticus und einen Bombinator igneus geimpft, aber ohne Resultate.

5. Herpetomonas pyrrhocoris Zotta[4]), Pyrrhocoris apterus (Darm), Vidy, 16. Sept. 1915, Galli. Von 23 Pyrrhocoris habe ich nur 3 infiziert gefunden. Im August habe ich 40 P. apterus aus Oron (Waadt) untersucht, von denen aber keiner infiziert war. Trotzdem ich die verschiedenen Pflanzen, auf denen die Pyrrhocoris leben, untersucht habe, habe ich bei keiner Flagellaten gefunden. Da ich bis jetzt Flagellaten von Euphorbiaceen im Ct. Waadt nicht gefunden hatte, so habe ich mit einer Pravaz-Spritze einige Euphorbien mit H. pyrrhocoris geimpft und sie 9 Tage darauf untersucht, ohne aber Flagellaten finden zu können.

6. H. polleniae n. sp., Pollenia rudis (Darm), Niremont (1400 m, Fribourg), 12. März 1916, Galli (Fig. 1). Bei einer von 7 P. rudis, die ich auf Schnee gesammelt habe, fand ich sehr viele Her-

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. p. 496.

[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 70. 1912. p. 371.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 78. 1914. p. 228.

[4]) Diese Art, die ich im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1914. p. 46 beschrieben hatte, war schon unter demselben Namen in Rumänien von Zotta veröffentlicht worden.

petomonas, die ganz verschieden von H. muscaedomesticae, H. calliphorae und H. scatophagae waren. Der Körper ist kurz, eiförmig oder am hinteren Ende etwas zugespitzt, die Geißel sehr kurz, der Kern ziemlich groß, der Blepharoplast klein. Von ihm entspringt die Geißel, doch scheint in einigen Fällen letztere direkt vom Periplast zu entspringen. Beweglichkeit gering; sehr oft sind die Formen agglomeriert. Viele in Teilung befindliche Formen besitzen 2 Geißeln. Die präflagellaten Formen (Kala-Azar-Formen) sind rund oder eiförmig und zeigen, mit Giemsa gefärbt, oft im Protoplasma dunkle Streifen. H. polleniae ist der von Flu[1]) beschriebenen Leptomonas muscae domesticae sehr ähnlich. Da ich bei P. rudis sehr zahlreiche Herpetomonas, und zwar alle nur von dieser Form, gefunden habe, so glaube ich nicht, daß H. polleniae nur als eine Entwickelungsform von H. muscaedomesticae zu betrachten ist.

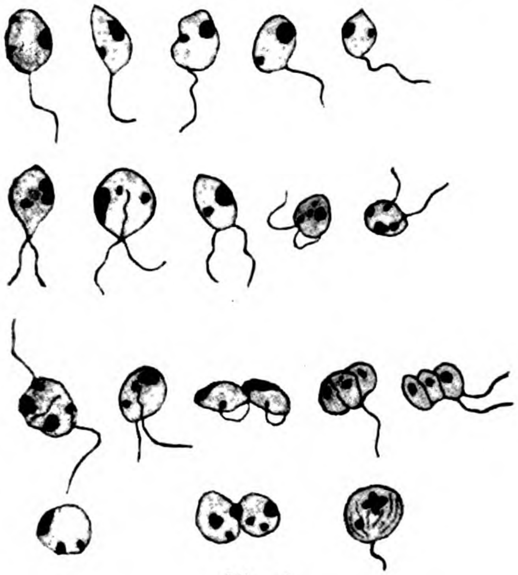


Fig. 1.

Fig. 2.

7. Taenia serrata Goeze, Hund, Grandson (Waadt), S. Chapuis.

8. Cysticercus pisiformis Zeder, Kaninchen (Epiploon), idem und Géronde (Wallis), Michelet.

9. Echinococcus polymorphus Dies., Mann (Abdomen), Vallorbe (Waadt), 10. Febr. 1915, Curchod. In der Blasenflüssigkeit habe ich M. pyogenes und B. vulgare gefunden.

10. Cercaria diplocotylea Lühe, Planorbis marginatus, Vidy, 13. Okt. 1915, Galli.

11. C. ornata, La Val., idem.

12. C. armata v. Sieb., Physa hypnorum, idem, 9. September, 24. Oktober 1915.

13. Anguillula lumbrici Gmel., Lumbricus terrestris, Vidy, 14. März 1916, Galli.

14. Habronema muscae Carter, Sarcophaga melanura (Thorax), Lausanne, Oktober 1915, Galli. Trotzdem ich sehr viele Fliegen in Lausanne untersucht habe, fand ich erst jetzt das H. muscae.

15. Protospirura muris Werner, Mus musculus (Magen), Lausanne, August 1915, Schiffmann. Nur bei 3 von 11 untersuchten Mäusen, die alle aus einem einzigen Zimmer stammten.

---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57. 1911. p. 522.

16. Spirura strumosa Rud., Talpa europaea (Larven in Cysten an der Oberfläche der Magenserosa), Sauvabelin (Lausanne), 30. Jan. 1916, Galli (Fig. 2). Bei diesem Maulwurf, den ich tot antraf, war die ganze Magenserosa mit weißen Cysten von der Größe eines Hirsekorns bedeckt. Sie glichen kleinen Tuberkeln, aber mit Hilfe der Lupe konnte man bemerken, daß sie durch einen Stiel fixiert waren, und durch die Hülle konnte man die spiralförmige Larve bemerken.

17. Microfilarien im Blute von Corvus frugilegus, L'Isle (Waadt), 23. Febr. 1916, Bornand. Sehr zahlreiche Microfilarien von 135—140 × 5 µ ohne Scheide. Vorderende abgerundet, Hinterende zugespitzt. Sie färben sich sehr gut mit Giemsa (1 : 20), Thymolblau, Karbolfuchsin, Karbolthionin, Pappenheim und vorzüglich mit Pikrokarmin. Sie sind fein quergestreift, ihr Protoplasma ist fein granuliert; Kopffleck langgestreckt, Schrägfleck fein, sehr wenig markiert, V-Fleck sehr nahe dem Schrägfleck und gut markiert; Zentralkörper eiförmig, kleiner als der V-Fleck; Schwanzfleck sehr klein, von einem sehr kleinen, eiförmigen Fleck gefolgt. Im Körper der Raben waren keine Filarien vorhanden.

18. Chaetogaster limnaei K. Baer, Planorbis marginatus, Physa hypnorum, Vidy, September und Oktober 1915, März 1916.

19. Laelaps agilis Koch, Mus sylvaticus, Ht. Darbignon, 1915. Galli.

20. Haemomyson musculi Mégn., Mus sylvaticus, Cery (Lausanne), Preisig.

21. Chorioptes auricularum Lucas et Nicolet, Katze (Ohren), Chailly (Lausanne), 14. Dez. 1915, Galli.

22. Haematopinus ventricosus Denny, Kaninchen, Lausanne, 31. Nov. 1915, Galli.

23. H. pilifer Burm., Hund, Lausanne, März 1915, Narbel.

24. H. stenopsis Burm., Ziege, Ht. Darbignon, Juli 1915, Bornand.

25. Trichodectes climax, idem.

26. T. latus Nitz., Hund, Lausanne, März 1915, Galli.

27. Docophorus auratus Nitz., Scolopax rusticola, Sondrio (Italien), März 1915, Galli.

II. Untersuchungen über Phytoparasiten.

1. Hefepilze im Darme von Insekten. Während einer großen Sterblichkeit der Bienen habe ich den Darm dieser Insekten ganz voll von Hefen (Zygosaccharomyces?) gefunden. Aehnliche Hefen habe ich im Honig gefunden, der als Futter für diese Bienen gedient hatte. Gesunde Bienen, die ich mit Honig, dem ich Kulturen dieser Hefen zugesetzt hatte, gefüttert hatte, sind nach 6—7 Tagen zugrunde gegangen: ihr Darm enthielt sehr viele Hefen. Da aber Bienen, die in Käfige eingesperrt sind, leicht zugrunde gehen, so ist es schwer, zu entscheiden, ob die Hefen eine wichtige Rolle bei der Sterblichkeit der Bienen gespielt haben.

Auch bei einer Musca domestica habe ich den Darm ganz voll von Hefen der Gattung Hansenia gefunden, desgleichen habe ich sie auch im Darme von Scatophaga stercoraria (Ht. Darbignon) beobachtet.

2. Ueber Irrtümer der Diagnose der Aktinomykose habe ich schon einiges mitgeteilt[1]), bin jetzt aber in der Lage, neue Fälle zu zitieren. In 3 Fällen von Läsionen der Pleura, des Unterkiefers und der Haut bei Menschen, wo Aktinomykose diagnostiziert worden war, habe ich anstatt der Actinomyces-Drusen nur Leptothrix-Drusen gefunden. In 2 Fällen von Verletzungen der Halsdrüsen und

---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. p. 511.

der Bauchhöhle bei Menschen, die auch als Aktinomykose diagnostiziert waren, waren die Actinomyces-Drusen nur Eiterbröckchen und Tyrosinkristalle. Diese Fälle zeigen immer mehr, wie vorsichtig man sein muß, Aktinomykose zu diagnostizieren, und wie leicht es zu verstehen ist, daß sehr oft KJ keine Wirkung auf diese Krankheit hat! Auch bei Rindern hat Griffith gezeigt[1]), daß viele Fälle, die als Aktinomykose diagnostiziert worden sind, nichts anderes sind als Fälle von Aktinobacillose.

3. Ein Fall von Tuberkulose bei Grus japonensis Müller. Im Juli 1915 habe ich von Prof. Blanc ein Stück der Leber einer G. japonensis, die in Nyon gestorben war, erhalten. Es war in Formalin konserviert und ganz mit Tuberkeln erfüllt, von der Größe einer Nadelspitze bis zu der eines Hanfkorns. Diese Tuberkel waren von einer fibrösen Hülle mit eitriger Masse gebildet und enthielten Häufchen von Tuberkelbacillen, die spindel- oder keulenförmig und sehr oft gekrümmt und sehr wenig granuliert waren.

4. Nochmals über Rattentuberkulose. Meine Untersuchungen über Rattentuberkulose[2]) habe ich fortgesetzt. Sie können in 3 Reihen eingeteilt werden:

1. Reihe. Impfungen mit einer Tuberkelemulsion eines Mus rattus (Typus bovinus) $1/_2$ cm unter die Schenkelhaut.

1. Exp. Zwei M. rattus sind nach 2 und 3 Monaten zugrunde gegangen; der erste ohne Verletzungen und ohne Tuberkelbacillen, der zweite mit leichter Vergrößerung der Milz, starker Entzündung der linken Lunge mit kleinen, weißen Tuberkeln. Tuberkelbacillen nur in der Lunge, fein granuliert, in Häufchen.

2. Exp. Eine weiße Ratte und ein Mus rattus wurden mit einer Tuberkelemulsion dieser Ratte geimpft; sie gingen nach 21 Tagen und nach 12 Monaten ein. Die erste ist an Enteritis ohne Tuberkelbacillen gestorben, der zweite zeigte keine Verletzungen, aber wenn man die linke Lunge zwischen den Fingern komprimierte, bemerkte man eine Verhärtung, die nach dem Einschneiden eine eitrige Masse mit sehr vielen, feinen. uniform oder granuliert gefärbten Tuberkelbacillen, die einzeln oder in Häufchen lagen, zeigte. Viele Bacillen waren in Mononuklearen enthalten.

2. Reihe. Impfungen eines Kaninchens mit einer Tuberkelemulsion (Typus bovinus) $2^1/_2$ cm unter die Schenkelhaut.

1. Exp. Zwei weiße Ratten sind nach 6 Monaten eingegangen. Bei der ersten fanden sich 2 kleine Tuberkel an dem geimpften Schenkel; die Lungen zeigten hämorrhagische Flecken und kleine, weiße Tuberkel. Milz stark vergrößert; Entzündung der Leber und Nieren. Sehr viele Tuberkelbacillen im Schenkel und Lungentuberkel. Die Bacillen sind uniform gefärbt, kurz, dick, einige keulenförmig, einzeln oder in Häufchen; sie sind länger und granuliert in der Milz, kleiner in Leber und Nieren. Bei der zweiten fanden sich 2 kleine Tuberkel in der linken und rechten Lunge. Sie sind sklerosiert und enthalten wenige, kurze, dicke, gleichmäßig gefärbte Tuberkelbacillen.

2. Exp. Von einer bunten Ratte und einem Mus sylvaticus, die mit einer Tuberkelemulsion der ersten Ratte geimpft waren, lebt die erste noch, wahrend der zweite nach 5 Monaten gestorben ist. An dem hinteren Ende der Lungen speckige Verhärtung; starke Vergrößerung der Milz. Tuberkelbacillen in den Lungenverletzungen sehr zahlreich, etwas granuliert, keulenförmig, in großen Haufen, dem Leprabacillus sehr ähn-

---

[1] Journ. of Hyg. Vol. 15. 1916. p. 195.

[2] Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. pr. 511.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

lich. Einige liegen in Riesenzellen. Die Bacillen sind auch sehr zahlreich in Milz und Nieren, fehlen aber in der Leber.

3. Reihe. Impfungen mit Urin eines an Tuberkulose von Cercopithecus fuliginosus gestorbenen Kaninchens (Typus bovinus und humanus) $^1/_2$ cm unter die Schenkelhaut.

1. Exp. Ein Mus rattus ist nach 5 Monaten gestorben; die linke Lunge zeigte kleine Tuberkel mit sehr vielen feinen, granulierten, in Häufchen liegenden Tuberkelbacillen.

2. Exp. Zwei weiße, mit einer Tuberkelemulsion dieser Ratte geimpfte Ratten sind nach 10 Monaten zugrunde gegangen. Bei der ersten waren Tuberkel in der Lunge und die Spitze der linken Lunge war verhärtet. In diesen Verletzungen fanden sich sehr viele, feine, granulierte, in Häufchen liegende Tuberkelbacillen. Bei der zweiten Ratte waren die Verletzungen ähnlich.

Diese neuen Untersuchungen zeigen immer mehr, daß weiße Ratten, Mus rattus und M. sylvaticus für Tuberkulose empfindlich sind, daß aber im allgemeinen die Dauer der Krankheit eine sehr lange und die Verletzungen sehr wenig entwickelt und im allgemeinen nur auf die Lunge lokalisiert, die Bacillen sehr zahlreich, sehr oft nur in den Lungen sind; sie zeigen die Neigung, sich in Häufchen zu sammeln, so daß sie an Leprabacillen erinnern.

5. Mycobacterium smegmatis var. caviae Galli-Valerio. Im Smegma von Meerschweinchen habe ich säurefeste Bacillen gefunden, die folgende Merkmale zeigten: Feine Bacillen, etwas gekrümmt, einige keulenförmig, einzeln oder in Häufchen. Man findet aber auch Formen, die etwas länger und unduliert sind. Auch mit Aether gewaschen, bleiben sie säurefest. In einem Falle habe ich diesen Bacillen sehr ähnliche, sporulierte, nichtsäurefeste Bacillen, die dem B. tetani sehr glichen, gefunden, aber Impfungen blieben resultatlos.

III. Untersuchungen über Zooparasiten.

1. Untersuchungen an Eiern von D. latus L. Mißbildungen von Eiern von D. latus scheinen sehr selten zu sein, denn nur in einem Falle habe ich ein Ei gesehen, das etwas asymmetrisch war und an den Polen einen hellen Pfropf zeigte; es war etwas länger und an einem der Pole zugespitzt. (Fig. 3.)

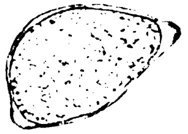


Fig. 3.

Die Entwickelungdauer der Eier von D. latus ist bei 18—20° C sehr verschieden. In einigen Fällen habe ich Onkosphären erst nach 3–5 Monaten bemerkt In der Entwickelung habe ich keine Verschiedenheit gesehen, wenn die Eier in Wasser oder in feuchten Faeces gelassen worden waren; Urin scheint aber die Entwickelung etwas zu verzögern Im Winter können sie einige Tage im Eise eingeschlossen bleiben, sie entwickeln sich dann aber doch sehr gut. Bis jetzt konnte ich nie Fische mit den Onkosphären infizieren, doch konnte ich leider nur mit Carassius auratus und Phoxinus laevis experimentieren. Aber ich glaube immer mehr, daß die Onkosphären sich bei wirbellosen Tieren vorher entwickeln müssen[1]).

2. Ueber eine Finne in der Leber von Mus sylvaticus. In der Leber eines M. sylvaticus, den Dr. Bornand mir von Ht. Darbignon (Wallis) im August 1915 geschickt hatte, habe ich 10 gelbliche Knötchen von der Größe eines Nadelkopfes gefunden. Sie waren mit etwas Kalksalz infiltriert und enthielten eine Finne mit kugeligem Kopf, 4 runden

---

[1]) Siehe Schor, M., Dissertation. Lausanne 1902. — Ketczekian, C., Dissertation Lausanne 1909.

Saugnäpfen, die auf 4 Vorsprüngen fixiert waren, und ein kurzes Rostellum mit 50 Haken in 2 Kränzen. Der Zahnfortsatz der Haken zeigte keine Spaltung, und die Kralle war kurz und sehr gekrümmt, der Hals sehr eng. Die Leber war fettig entartet; ganz in der Nähe der Finnen bemerkte man eine entzündliche Zone mit eosinophilen Zellen. Diese Finnen sind dem Kopfe von Taenia tenuicollis Rud. der Mustelidae sehr ähnlich. Finnen dieser Art wurden bis jetzt nur bei Talpa europaea (C. talpae Leuck.) und bei Arvicola arvalis (C. hypudaei Leuck.) gefunden.

3. Nochmals über Psoroptes-Räude bei Kaninchen. Räudeverletzungen an Lippen und Finger bei Kaninchen, von P. minor und P. communis var. cuniculi erzeugt, habe ich schon beschrieben 1). Jetzt habe ich in Lausanne bei einem Kaninchen, das an Ohrenräude litt, Läsionen an der Nase und an den Lippen beobachtet, die nur von P. communis var. cuniculi erzeugt waren. Man muß also diese Milbe nicht nur als Agens der Ohrenräude, sondern auch der Hauträude bei Kaninchen betrachten. Nach Fiebiger 2) hat Schindelka auch bei Feldhasen eine Psoroptes-Räude auf dem Rücken beobachtet.

4. Etwas über die Biologie von Trombidium holosericeum L. Die Biologie dieser Milbe ist nicht sehr bekannt. Zwei Exemplare davon, die Dr. Rochaz mir von Orbe geschickt hatte, habe ich in einen Glasbehälter mit etwas Erde gesetzt. Kirschen, Orangen, Zuckersirup und Blumen wurden hinzugefügt, aber die Milben gingen nur auf die Blumen von Plantago, L. salicaria und von Compositen. Sie bohrten kleine Löcher in die Erde und blieben da 2—7—10 Tage ganz verborgen. Auch blieben sie sehr gern stundenlang auf feuchter Erde ganz ruhig. Im allgemeinen liefen sie nur am Morgen herum, wenn die Sonne noch nicht ins Laboratorium gedrungen war. Sie haben 3, resp. 4 Monate gelebt.

5. Die Larven von H. bovis als Verbreiter von Bakterien. Schon Piana 3) hat bei einer Larve von H. bovis, die aus einem kranken Rinde stammte, B. multocidum gefunden. Bei einer von diesen Larven habe ich M. pyogenes und bei einer anderen B. coli gefunden. Es ist also wahrscheinlich, daß diese Larven bei ihren Wanderungen im Rinderkörper Bakterien mit sich tragen und so infektiöse Krankheiten erzeugen können.

6. Ueber die Biologie der Muscidae. Pollenia rudis, die in großen Mengen überwintert, habe ich nicht nur in Lausanne, sondern auch auf dem Jura und in den Alpen gefunden, und zwar bis 1400 m nicht nur in Sennhütten, sondern an sonnigen Tagen auch auf dem Schnee. In den Hütten findet sie sich in Spalten und zwischen Holzstücken, wo sie ganz unbeweglich bleibt, so daß es sehr leicht ist, sie zu fangen. Im November 1915 habe ich auch viele St. calcitrans von Frau Dr. Schiffmann in Lausanne bekommen. In einen Glasbehälter mit Zuckersirup gesetzt, haben diese Stomoxys sehr gut den Sirup gesaugt, sind aber nach 10 Tagen zugrunde gegangen.

Milben auf Fliegen sind nicht selten zu finden. So habe ich in Lausanne von Frau Dr. Schiffmann Musca domestica erhalten, die mit Nymphen (Hypopos) von Tyroglyphinae ganz bedeckt waren, so daß sie eine gelbbraune Färbung zeigten. Auf M. domestica habe ich auch ganz entwickelte Glycyphagen gefunden und auf einer M. domestica und einem St. calcitrans Haemomyson musculi gesehen.

---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. p. 511.

2) Die tierischen Parasiten der Haus- und Nutztiere. Wien 1913. p. 344.

3) Clinica veterinaria. 1889. No. 6.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Diese Milben sind im allgemeinen am Thorax und Abdomen fixiert, aber in einigen Fällen auch auf den Flügeln und dem Rüssel. In einigen Fällen scheinen die Fliegen dadurch belästigt zu sein, denn sie fliegen sehr langsam, aber in der Mehrheit der Fälle sind diese Milben keine echten Parasiten für die Fliegen, sondern werden nur von den Fliegen passiv übertragen. Sehr wahrscheinlich spielen diese Fliegen aber eine wichtige Rolle bei der Infektion kleiner Tiere und der Nahrung mit Milben.

Ich habe Eier und Larven in einigen weiblichen Fliegen gezählt und die folgenden Resultate erhalten:

Calliphora vomitoria	410—475	Eier
C. erythrocephala	275—279	„
Lucilia caesar	400	„
Sarcophaga carnaria	27	„
S. melanura	52	Larven.

Larven von Calliphora habe ich von einem Arzt in Lausanne bekommen, der beide Ohren eines Neugeborenen ganz voll von ihnen gefunden hatte.

7. Widerstand einiger Arthropoden dem Fasten gegenüber. Die Experimente waren bei einer Temperatur von 18—20° C in Glasbehältern gemacht worden:

Trichodectes canis	6—7	Tage	
Haematopinus ventricosus	4—5—7	„	(sie stachen Menschen nie)
Acanthia lectularia	22—55—62	„	
Pulex irritans	5	„	
Ctenocephalus serraticeps	2—4	„	
Ceratophilus fasciatus	2—4	„	

B. Parasitologische Technik.

1. Färbung und Konservierung des M. meningitidis für Demonstrationszwecke. Meningokokken habe ich mit den verschiedenen Methoden, die für die Färbung von Gonokokken vorgeschlagen worden sind, gefärbt[1]). Die Resultate waren die folgenden:

sehr gute Färbung gibt Thymolblau und Nachfärbung mit Safranin; gute Färbung: Pick-Jakobson, Leszczinski, v. Wahl; wenig gute Färbung: Lanz No. 1, Leishman, Giemsa.

In Liq. cer. spinalis mit Zusatz von einigen Tropfen Formalin konnte ich die Meningokokken noch nach 1 Monate sehr gut färben.

Für die Konservierung einiger Flüssigkeiten für mikroskopische Demonstrationszwecke ist Formalin sehr zu empfehlen. So habe ich sehr gut färbbare Sp. vincenti in Speichel mit 1 Proz. Formalin 8 Monate lang konserviert und bin im Besitze von Embryonen der F. immitis im Blute, die sich seit 20 Jahren sehr gut konserviert haben.

2. Färbung von Cercarien. Gute Resultate habe ich erhalten mit Präparaten, die 12—24 Stunden mit Pikrin-Essigsäure feucht fixiert, dann mit 70 Proz. Alkohol gewaschen und 12—24 Stunden mit Alaunkarmin und Hämatoxylin gefärbt worden waren. Mit Pikrokarmin habe ich nur eine gelbe Färbung der Cercarien erhalten. Sehr gute Demonstrationspräparate habe ich mit der Methode von Harrison (Kollargol 1:20) erhalten: die Cercarien waren weiß auf schwarzgelbem Grunde.

3. Ein Tischchen für mikroskopische Arbeiten auf dem Lande. Alle diejenigen, die mikroskopische Untersuchungen auf dem Lande gemacht haben, wissen sehr wohl, wie schwer es ist, gute Plätze zum Sitzen und für das Mikroskop zu finden. Ich habe daher einen kleinen Apparat konstruieren lassen, der als Tisch für das Mikroskop und als Sitz für den Beobachter dient.

---

[1]) E. Tschernobilsky, Dissertation. Lausanne 1916.

Fig. 4 zeigt diesen Apparat für den Transport geschlossen, Fig. 5 denselben fertig für die Arbeit. Der ganze Apparat ist aus Eisen und hat ein Gewicht von 2850 g. Man könnte ihn natürlich auch aus Stahlröhren konstruieren lassen und so sein Gewicht noch sehr vermindern.

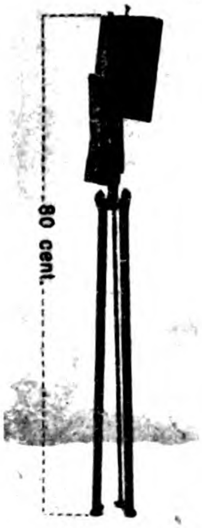


Fig. 4.

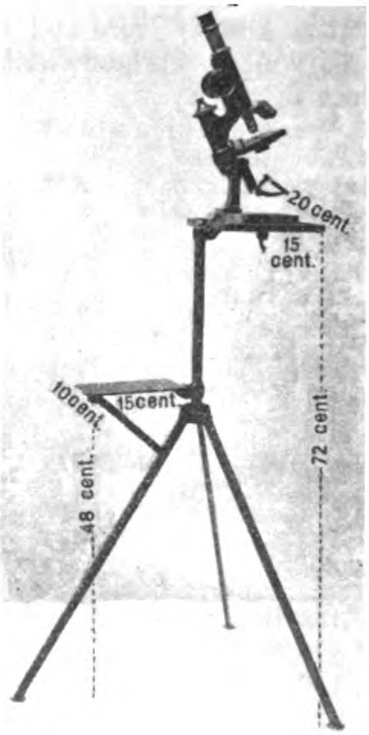


Fig. 5.

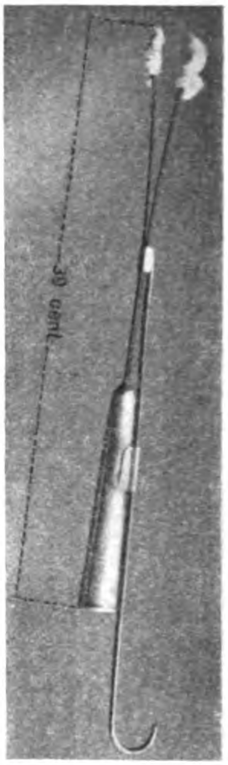


Fig. 6.

4. **Eine Zange für Schlangen.** Fig. 6 zeigt eine Zange, die ich für einige Experimente mit *Vipera aspis* anfertigen ließ. Es empfiehlt sich, wie Fig. 6 zeigt, die 2 Klemmen mit etwas Gaze zu umwickeln, um Verletzungen der Tiere zu vermeiden.

Lausanne, 30. März 1916.

Inhalt.

Ata Bey, Arif, Goldberg, L., und **Omar Bey, Neschat,** Experimentelles über die Jerichobeule. b) Reinkultur des Parasiten der Beule, p. 25.

Bahr, L., „Gärtner-Bacillen" und „Rattenschädlinge". (Zugleich eine Antwort an Dr. med. F. Ickert), p. 20.

Galli-Valerio, B., Beiträge zur Biologie und zur Bekämpfung der Läuse, p. 33.

Galli-Valerio, B., Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik, p. 41.

Huntemüller, Kritische Studien über Morphologie und Züchtung von filtrierbaren Virusarten, p. 36.

Popoff-Tcherkasky, Dora, Beitrag zur Kenntnis der Differentialcharaktere zwischen Ped. capitis de Geer und Ped. corporis de Geer, p. 29.

Riegel, W., Bemerkungen zu: v. Hövell, Ueber eine neue Gruppe typhusähnlicher, farbstoffbildender Bakterien (d. Zeitschr. I. Abt. Orig. Bd. 77. Heft 7), und Köhlisch, Gelbwachsende, den Bacillen der Typhus-Paratyphus-Gruppe ähnliche Bakterien (ebenda I. Abt. Orig. Bd. 78. Heft 3), p. 17.

Schöppler, Hermann, Ueber eine pemphigusartige Erkrankung bei Lacerta agilis L., durch Gregarinen hervorgerufen, p. 27.

Wagner, Gerhard, und **Emmerich, Emil,** Experimenteller Paratyphus (A und B) durch Gallenblaseninfektion, p. 1.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 79. Heft 2.

Ausgegeben am 30. Januar 1917.

Nachdruck verboten.

Weitere Mitteilungen über Variabilitätserscheinungen bei Bakterien, die bereits bei ihrer Isolierung aus dem Organismus zu beobachten sind.

[Aus dem Kgl. Hygienischen Institut in Posen (Direktor: Generalarzt Geheimrat Prof. Dr. E. Wernicke) und der bakt. Abteilung der hyg.-chem. Untersuchungsstelle beim Sanitätsamte V. Armeekorps (Vorstand: Stabsarzt d. L. Dr. E. Gildemeister).]

Von Stabsarzt d. L. Dr. **E. Gildemeister**,
wissenschaftlichem Mitgliede des Instituts.

Mit 24 Figuren im Text.

I. Ueber Variabilitätserscheinungen beim Bact. coli.

Gelegentlich der Prüfungen von verschiedenen Blutalkalinährböden auf ihre Elektivität für Choleravibrionen machte Baerthlein die Beobachtung, daß bei unmittelbarer Abimpfung von einzelnen Bact. coli-Kolonien, die sich auf den genannten Nährböden entwickelt und auf diesen undurchsichtigen Nährmedien keine nennenswerten Differenzen im Aussehen gezeigt hatten, auf der Agarplatte häufig zwei stark voneinander abweichende Kolonietypen erkennen ließen, die Formen entsprachen, wie er sie in Ausstrichen aus alten Coli-Kulturen beobachtet hatte. Es handelte sich einmal um helle und wenig getrübte Kolonien und sodann um saftigere, gelblich-weiße, irisierende Kolonien. Erstere bestanden aus kurzen oder mittellangen, schlanken, geraden Stäbchen, während die trüben Kolonien aus sehr kurzen, dicken, plumpen, zuweilen kokkenähnlichen Bacillen sich zusammensetzten. Aus Reinkulturen der hellen Form konnten nach längerem Stehen in Ausstrichen auf der Agarplatte, neben hellen Kolonien verstreut, einzelne trübe Kolonien und umgekehrt in Ausstrichen aus alten Kulturen der trüben Form neben diesen auch helle Kolonien erhalten werden. Andere Kolonieformen als die beiden genannten Arten wurden von Baerthlein auch in alten Laboratoriumskulturen nicht angetroffen.

Um mir über die Häufigkeit und die Art der bei der Isolierung aus dem Organismus vorkommenden, von der Norm abweichenden Kolonieformen des Bact. coli einen Ueberblick zu verschaffen, ging ich in der Weise vor, daß ich eine große Zahl von mit Stuhl, der von Typhus- oder Ruhrkranken bzw. -rekonvaleszenten, oder auch von Gesunden stammte, beimpften Blauplatten durchmusterte und alle nicht die typische Coli-Form zeigenden Kolonien gleichzeitig auf Blauplatte und Agarplatte abimpfte. Das Wachstum einer typischen Coli-Kolonie erfolgt bekanntlich auf der Blauplatte in kreisrunden, flachen, leicht trüben, roten Scheibchen mit glatter, glänzender Oberfläche. Derartige Kolonien sind von häufig in Stuhlausstrichen vorkommenden, kleinen, trüben Kokkenkolonien und ebenso von den stärker gewölbten, saftigen, mehr hellroten, stark trüben Kolonien des Friedländer-Bacillus und des Bac. lactis aërogenes im allgemeinen leicht zu unterscheiden.

Meine Beobachtungen lehrten mich nun bald, daß das Auftreten von Coli-Kolonien, die von der Norm abweichen, in Stuhlausstrichen kein seltenes Ereignis ist. Aber nur ein Teil dieser von der Norm abweichenden Formen erwies sich bei der Weiterzüchtung als beständig; ein großer Teil schlug bereits bei der 1. Passagezüchtung in die Normalform zurück, und zwar handelte es sich zumeist um große, flache, glatte, glänzende Kolonien, die in der Mehrzahl einen schmalen, leicht unregelmäßigen Saum aufwiesen. Unter den bei der Weiterzüchtung sich beständig zeigenden Kolonieformen sind folgende wohlcharakterisierte Hauptarten zu unterscheiden:

1. Die Q-Form. Sie entspricht dem von v. Lingelsheim unter diesem Namen beschriebenen, in Ausstrichen aus alten Typhus-, Paratyphus B-, Alcaligenes- und Gärtner-Kulturen beobachteten Kolonietyp, der von mir, wie ich in dieser Zeitschrift kürzlich berichten konnte, auch bei frisch aus dem Organismus isolierten Typhus- und Paratyphus B-Bacillen angetroffen worden ist.

Fig. 1.

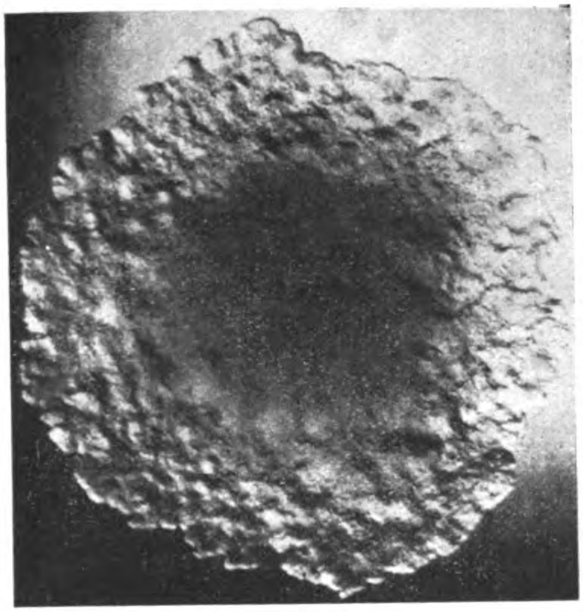


Fig. 2.

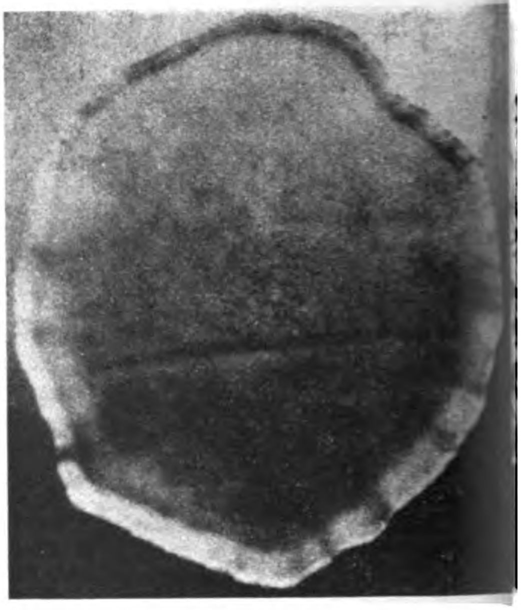


Fig. 1. Q-Form des B. coli auf Drigalski-Conradi-Agar.
Fig. 2. Q-Form des B. coli auf Agar.

Die Q Form des Coli-Bacillus wächst auf der Blauplatte in großen, flachen, im Zentrum etwas erhabenen Scheibchen mit leicht gezacktem Rande und chagrinierter, matt glänzender, fast stumpfer Oberfläche. Die Oberflächenzeichnung tritt bei mikroskopischer Betrachtung besonders schön in die Erscheinung (Fig. 1)[1]. Die Kolonien sind im Zentrum rot, in den Randpartien mehr blaurot; sie sind wenig oder garnicht durchsichtig.

Auf Agar (Fig. 2) entwickelt dieser Kolonietyp große, flache, plateauänliche Scheibchen, die nach dem leicht gezackten Rande ziemlich scharf abfallen. Die Kolonien sind wenig oder garnicht durchsichtig und haben auf Agar einen graugelben Farbenton; ihre Oberfläche erscheint leicht rauh und ist mattglänzend. Ein Vergleich der beiden Abbildungen zeigt, daß im Aussehen der Q-Form, je nachdem sie auf der Blauplatte oder Agarplatte zur Entwickelung kommt, erhebliche Unterschiede bestehen; auch bei den folgenden beiden Koloniearten ist, wie wir sehen werden, ein ähnliches Verhalten zu beobachten.

---

[1] Anm. Die in der vorliegenden und in den beiden vorhergehenden Arbeiten (Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 78. S. 129 u. 209) wiedergegebenen Photogramme sind von meinem Kriegsmitarbeiter, Herrn Mittelschullehrer Kowellik, in mustergültiger Weise aufgenommen worden, wofür ich ihm auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen möchte.

Auf den für die Typhus-Coli-Gruppe üblichen Differentialnährböden zeigt die Q-Form die für Coli-Bacillen typischen Reaktionen. Charakteristisch ist das Wachstum in Bouillon; es erfolgt genau in derselben Weise, wie es von v. Lingelsheim für die Q-Form des Typhus-, Paratyphus B-, Gärtner- und Alcaligenes-Bacillus angegeben worden ist. Bereits wenige Stunden nach der Beimpfung sieht man in der sonst völlig klar bleibenden Bouillon feine Flocken, die allmählich größer werden und zum Teil am Boden sich absetzen. Meist schon nach 24 Stunden hat sich ein bröckeliges, dickes Oberflächenhäutchen gebildet, von dem bei geringfügigem Schütteln Teile sich ablösen und zu Boden fallen. Die Bouillon bleibt auch nach mehrtägiger Bebrütung zwischen den Flocken, die dann allerdings zumeist am Boden liegen, völlig klar.

Fig. 3.

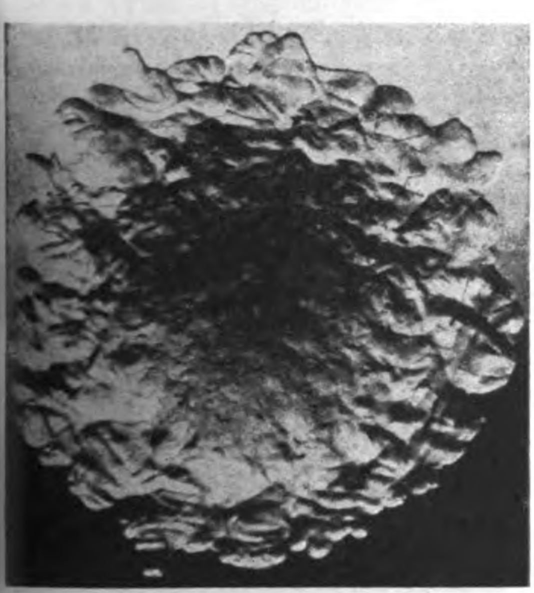


Fig. 4.

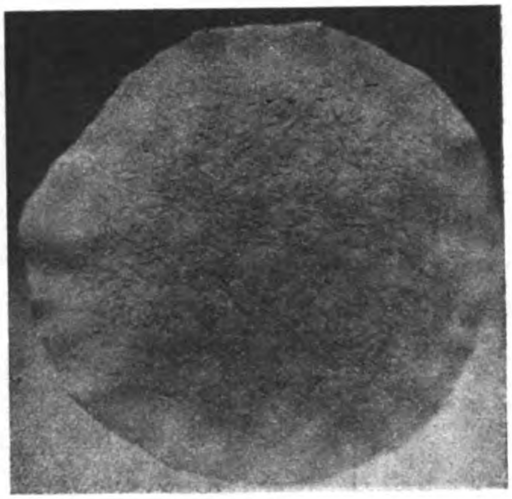


Fig. 3. Krinselige Form des B. coli auf **Drigalski-Conradi-Agar.**
Fig. 4. Krisselige Form des B. coli **auf Agar.**

Mikroskopisch besteht die Q-Form aus kurzen, plumpen, zum Teil kokkenähnlichen Stäbchen. Im hängenden Tropfen, der wiederum charakteristisch für diesen Kolonietyp ist und der stets aus jungen Bouillonkulturen angelegt wurde, sieht man kleine Häufchen verklumpter, unbeweglich daliegender Stäbchen und ausnahmsweise dazwischen vereinzelt liegende oder zu 2 und 3 verklebte Bacillen, die gleichfalls unbeweglich sind. Dementsprechend gelang es auch nicht, von Agarkulturen der Q-Form homogene Suspensionen herzustellen; stets trat Spontanagglutination ein.

Bei kurzfristigen Weiterimpfungen bewahrt die Q-Form alle sie charakterisierenden Eigenschaften. Aus alten Kulturen dieser Form erhält man im allgemeinen leichter Rückschläge, als dies bei alten Kulturen der Q-Form des Typhus- und Paratyphus B-Bacillus der Fall zu sein pflegt. Es spalten sich alsdann, außer anderen Formen, die meist spontanagglutinierend sind, auch regelrechte Normalformen ab, die Bouillon gleichmäßig trüben und im hängenden Tropfen beweglich sind. Bemerkenswert für die Q-Form des Coli-Bacillus ist noch die Feststellung, daß sie kein Indol bildet. Alle in dieser Richtung angestellten Versuche schlugen fehl. Aber auch die von der Q-Form sich abspaltenden Koloniearten, also auch die Normalformen, lassen unter allen Umständen Indolbildung vermissen.

2. Die krisselige Form. Sie entwickelt auf der Blauplatte Kolonien (Fig. 3), die bis zu einem gewissen Grade der Q-Form ähneln und gleichfalls größer sind als die Normalform; ihr Durchmesser erreicht nicht selten 1 cm. Die Kolonien dieses Typs sind flach, im Zentrum erhaben. Ihr Rand ist stärker gezackt, die Oberfläche tiefer durchfurcht, als es bei der Q-Form der Fall ist. Von letzterer ist die krisselige Form ferner durch die namentlich im Zentrum stärker glänzende Oberfläche zu unterscheiden. Bei durchfallendem Licht läßt dieser Kolonietyp starke Körnelung in seiner Masse erkennen; er erscheint gleichfalls im Zentrum rot und in der Peripherie mehr bläulich. Etwas anders ist das Koloniebild der krisseligen Form auf der Agarplatte. Hier entwickelt sie sich in zarten, sehr hellen, flachen, fast runden, glänzenden Kolonien, welche die Größe der Normalform nur wenig überschreiten. Bei Betrachtung gegen einen dunklen Hintergrund und insbesondere bei schwacher Lupenvergrößerung läßt sich starke Krisselbildung erkennen, welche die von auf Blauplatten gewachsenen Kolonien wesentlich übertrifft und sehr an das Bild einer positiven Objektträgeragglutination erinnert. Bei mikroskopischer Betrachtung (Vergr. 1 : 30)

Fig. 5.

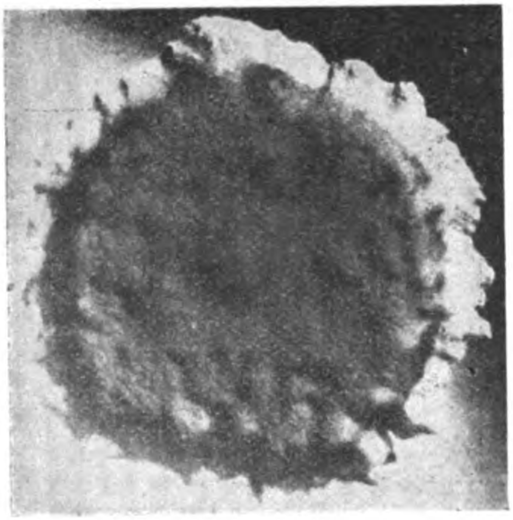


Fig. 6.

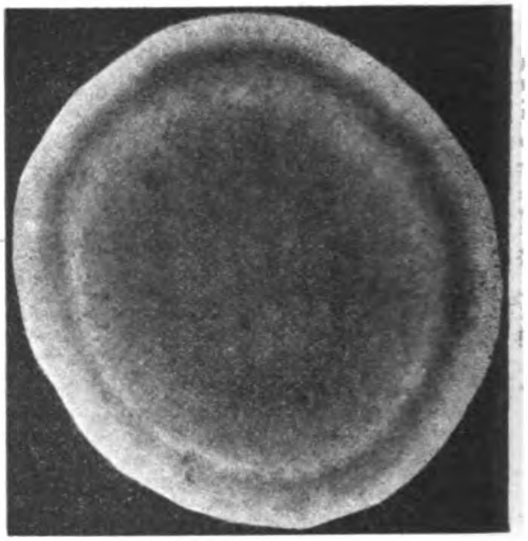


Fig. 5. Trübe Form des B. coli auf Drigalski-Conradi-Agar.
Fig. 6. Trübe Form des B. coli auf Agar.

sieht man auf der Oberfläche der Kolonien ein System von zarten Furchen, wie es in Fig. 4 deutlich erkennbar ist. Diese Zeichnung ist für die krisselige Form charakteristisch. Auf den Differentialnährböden verhält sich die krisselige Form wie ein regelrechter Coli-Bacillus. Ihr Wachstum in Bouillon erfolgt unter gleichmäßiger Trübung des Nährmediums; Indolbildung ist stark positiv. Mikroskopisch setzt sich die krisselige Form aus langen, größtenteils schlanken Stäbchen und mehr oder weniger zahlreichen, kurzen, plumpen Stäbchen zusammen, die beide im hängenden Tropfen gute Beweglichkeit zeigen.

Die krisselige Form ist bei kurzfristigen Ueberimpfungen durchaus artbeständig. Abspaltungen von Normalformen sind aus mehrwöchigen Bouillonkulturen verhältnismäßig leicht erhältlich.

3. Die trübe Form. Sie bildet auf der Blauplatte Kolonien, die durchschnittlich etwas größer sind als die Normalform, aber kleiner als die Q- und die krisselige Form. Die Kolonien bilden auf diesem Nährboden (Fig. 5) Scheibchen, die ein großes, erhabenes, mäßig gewölbtes Zentrum und einen flachen, zarten, gezackten Rand haben; das Zentrum fällt nach dem Rande zu steil ab.

Die Oberfläche der Kolonien ist leicht unregelmäßig gestaltet und matt glänzend. Die trübe Form ist auf der Blauplatte fast undurchsichtig. Auf Agar (Fig. 6) entwickelt dieser Kolonietyp runde, gelbe, gleichfalls fast undurchsichtige, ziemlich flache, im Zentrum etwas erhabene, feucht glänzende Scheibchen mit einem mäßig steil abfallenden Rande.

Das Wachstum der trüben Form auf den Differentialnährböden entspricht gleichfalls durchaus dem des Coli-Bacillus. Bouillon wird gleichmäßig getrübt, Indolbildung ist stark positiv. Die Kolonien der trüben Form werden von kurzen, plumpen, gut färbbaren Stäbchen gebildet, zwischen denen lange, schlecht färbbare, zum Teil zu kurzen Fäden ausgewachsene Bacillen gelagert sind. Im hängenden Tropfen ist Beweglichkeit festzustellen.

Auch die trübe Form bewahrt bei kurzfristigen Ueberimpfungen ihre Artmerkmale. Ausstriche aus mehrwöchigen Bouillonkulturen ergaben neben trüben Formen einzelne Normalkolonien.

Die trübe Form des Coli-Bacillus, wie sie Baerthlein auf Agar beobachtet hat, dürfte in ihrem Koloniebilde der von mir vorstehend beschriebenen trüben Form entsprechen. Baerthleins Beschreibung der Stäbchen, aus denen sich dieser Kolonietyp zusammensetzt, weicht zwar von meinen Befunden etwas ab, das seiner Arbeit beigegebene Photogramm weist jedoch Uebereinstimmung mit meinen Beobachtungen auf.

Was nun die Häufigkeit des Vorkommens der 3 beschriebenen Kolonietypen des Coli-Bacillus anbetrifft, so ist hervorzuheben, daß es nicht schwer fällt, sich innerhalb kurzer Zeit eine größere Anzahl der einzelnen Formen aus Stuhlausstrichen zu beschaffen.

Der Q-Form bin ich am häufigsten begegnet, etwas seltener sind die beiden anderen Formen. Sie finden sich auf den Stuhlausstrichplatten stets zusammen mit Normalformen des Coli-Bacillus, meist sind sie nur in einzelnen Exemplaren vertreten. Aber ich habe auch Stuhlausstriche angetroffen, in denen sie das Bild durch ihre große Zahl beherrschten, und in denen nicht nur eine Kolonieabart, sondern mehrere zu gleicher Zeit nebeneinander vorhanden waren.

Ich bin mir wohl bewußt, daß die geschilderten Kolonietypen die Zahl der vom Coli-Bacillus gebildeten, von der Norm abweichenden

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Kolonieformen sicherlich nicht erschöpfen; es kommen insbesondere Formen vor, die nicht ganz der trüben, aber auch nicht ganz der Q-Form entsprechen, also eine Zwischenstellung zwischen beiden einnehmen. Eine verhältnismäßig seltene, überaus eigenartige Gruppe von Kolonieformen des Coli-Bacillus wird, da sie auch bei anderen Bakterienarten beobachtet wurde, mit diesen zusammen im nächsten Abschnitt Besprechung finden.

II. Ueber eine Gruppe von eigenartig vielgestaltigen, äußerst labilen Kolonieformen (Flatterformen), die sich bei verschiedenen Bakterienarten finden.

Bereits früher habe ich in dieser Zeitschrift (Bd. 78. S. 129) über eigenartig vielgestaltige Kolonieformen berichtet, die ich bei einem Dauerausscheider von Paratyphus B-Bacillen fand. Unter den 4 verschiedenen Arten (Normal-, Misch-, trübe und Q-Formen) von Paratyphus B-Kolonien, die über viele Monate fast in jedem Stuhlausstrich dieses Dauerausscheiders anzutreffen waren, war die von mir als „Mischform“ bezeichnete Kolonieart dadurch ausgezeichnet, daß sie aus keiner homogenen Masse bestand, sondern zwei durchaus verschiedenartige Bestandteile erkennen ließ. Der eine Bestandteil der Mischform entsprach der Bakterienmasse von Normalkolonien, während der andere Bestandteil eine überaus zarte, ganz flach wachsende, metallisch glänzende Bakterienmasse mit unregelmäßig gestalteter Oberfläche darstellte. Die beiden Bestandteile waren nun innerhalb der Kolonien weder in den gleichen Mengenverhältnissen vorhanden, noch in derselben Weise zueinander angeordnet. Infolgedessen war der Formenreichtum dieses Kolonietyps ein überaus großer; die absonderlichsten Formen wurden gebildet; keine Kolonie glich völlig der anderen. Abimpfungen von den Mischformen lieferten nun keine einheitlich geformte Nachkommenschaft, sondern eine Vielheit von vielgestaltigen Mischformen und daneben in wechselnder Zahl Kolonien von normalem Aussehen. Aber auch die Normalkolonien erwiesen sich bei der Weiterzucht als äußerst labil; sie spalteten ihrerseits, so oft auch der Versuch wiederholt wurde, stets und ständig wieder Mischformen ab. Mischform und Normalform dieses Paratyphus B-Stammes schlugen also ständig ineinander um und sind demnach als „beständig umschlagende Sippen“ im Sinne von Eisenberg zu bezeichnen (und nicht, wie es irrtümlich in der betreffenden Arbeit heißt, als „beständig spaltende Sippen“). Die beiden übrigen Kolonieformen, die auf den Stuhlausstrichplatten des Dauerausscheiders zu finden waren, und die ich als trübe und als Q-Form angesprochen habe, blieben bei der Weiterzucht artbeständig, d. h. Abimpfungen der trüben Form ergaben ausschließlich trübe Formen und Abimpfungen der Q-Form ausschließlich Q-Formen.

Weiterhin habe ich in Stuhlausstrichen vielgestaltige Typhuskolonieformen angetroffen, über die ich hier gleichfalls berichtet habe (Bd. 78. 1916. S. 209). Es handelte sich um 2 Typhuskranke, in deren Stuhlausstrichen ich neben regelrecht gewachsenen Typhuskolonien einige wenige, in ihrem Wachstum stark gehemmte, stecknadelkopfgroße, sonst aber regelrecht geformte Kolonien antraf, die als Typhusbacillen identifiziert werden konnten und bei der Weiterzucht verschiedenartige, zum Teil unregelmäßig gestaltete, in ihrem Wachstum mehr oder weniger gehemmte Kolonietypen mit Uebergängen unter sich und zu ungehemmt wachsenden Normalformen und außerdem regelrechte Normalformen entwickelten. Letztere sowie auch die auf der Ausgangsplatte angetroffenen Normalformen waren dagegen völlig artbeständig. In 4 weiteren Fällen traf ich gleichfalls Typhuszwergkolonien zum Teil allein, zum Teil mit Normalformen an. Diese Zwergformen lieferten zwar keine polymorphe Nachkommenschaft, spalteten aber auch dauernd Normalformen ab, die artbeständig blieben.

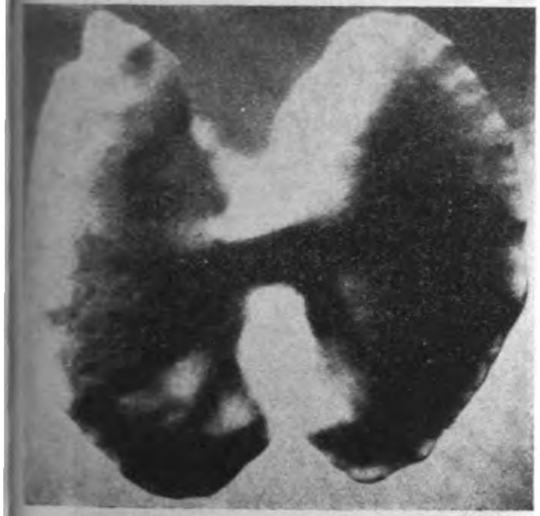


Fig. 7. Ruhr Y 3975. Flatterform (Hauptform).

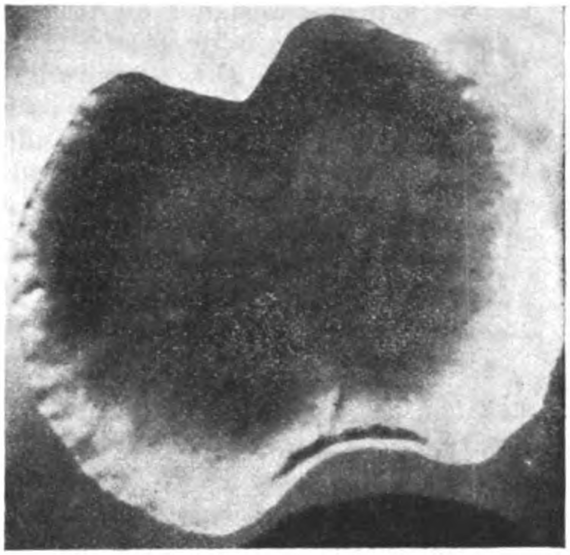


Fig. 8. Ruhr Y 3975. Flatterform (Hauptform).

Fig. 9.

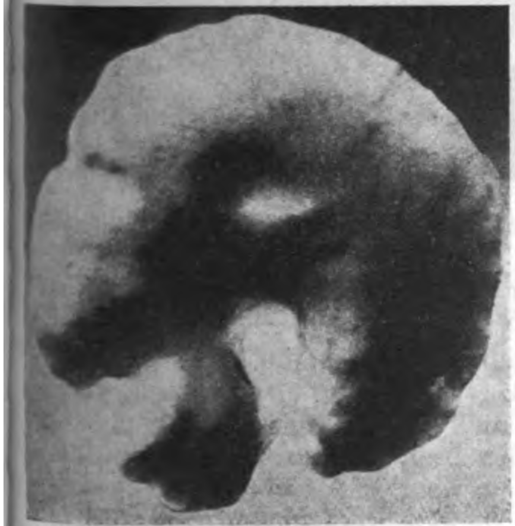


Fig. 10.

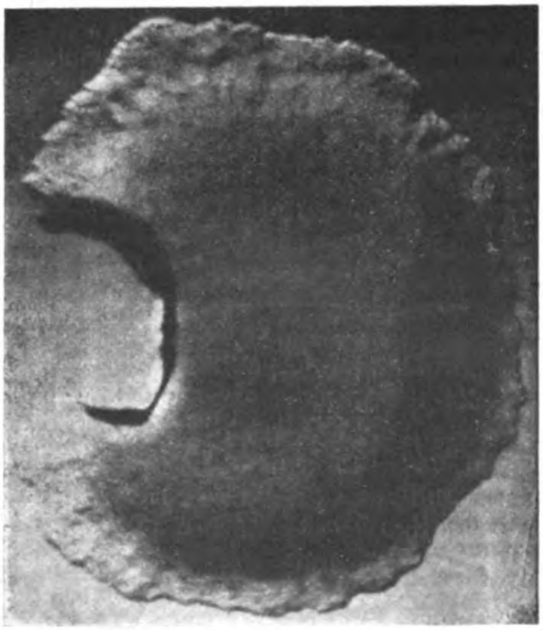


Fig. 9. Ruhr Y 3975. Flatterform (Hauptform).

Fig. 10. Coli 7498. Flatterform (Hauptform).

Bei meinen weiteren Untersuchungen über Variabilitätserscheinungen bei frisch aus dem Organismus isolierten Bakterien bin ich vornehmlich bei Ruhr- und Coli-Bacillen, aber auch bei Typhus-, Paratyphus B- und paratyphusähnlichen Bacillen eigenartig unregelmäßigen und überaus vielgestaltigen Kolonieformen begegnet, die auf Grund ihres übereinstimmenden Verhaltens bei der Weiterzucht trotz der großen Verschiedenheit ihrer Formen als eine gemeinsame Koloniegruppe aufgefaßt werden können, und die ich wegen ihrer außerordentlichen Labilität bei der Passagezüchtung als „Flatterformen“ bezeichnen möchte.

Die Koloniegruppe der Flatterformen besteht einmal aus Hauptformen, wie sie in Fig. 7—12 abgebildet sind. Hauptformen nenne ich sie deshalb, weil sie in allen Fällen auf den Stuhlausstrichplatten anzutreffen waren, während die übrigen Formen nur in einzelnen Fällen auf der Ausgangsplatte vorhanden waren und zumeist erst bei der Weiterzüchtung der Hauptformen sich abspalteten. Wie eine Betrachtung der Photogramme, deren Aufnahme wie auch die der übrigen Bilder, mit Ausnahme der in Fig. 12 abgebildeten Kolonie, nach 18- bis 24-stündiger Bebrütung der Platten bei 37° erfolgt ist, lehrt, haben sich die Kolonien nicht, wie es normalerweise bei den Bakterien der Typhus-Coli- und Ruhrgruppe zu geschehen pflegt, zu gleichmäßig geformten, runden Scheibchen entwickelt, sondern weisen an einer oder an mehreren Stellen Defekte auf. Dadurch, daß die Defekte verschieden stark ausgeprägt sind und ihren Sitz an den verschiedensten Stellen — bald mehr an der Peripherie, bald mehr im Zentrum — haben, entstehen ganz eigenartige und gleichzeitig mannigfache Formen. Die Bakterienmasse, aus der die Kolonien bestehen, besitzt wohl das gleiche Aussehen wie die von Normalkolonien, unterscheidet sich aber von letzteren durch eine in ihrer Intensität stark wechselnde, zähschleimige Beschaffenheit.

Fig. 11.

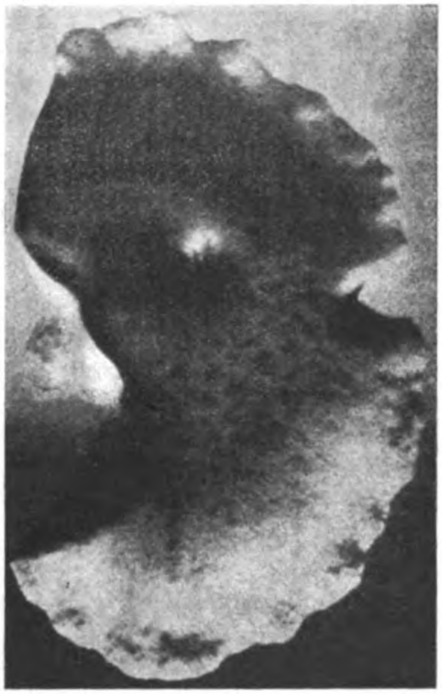


Fig. 12.

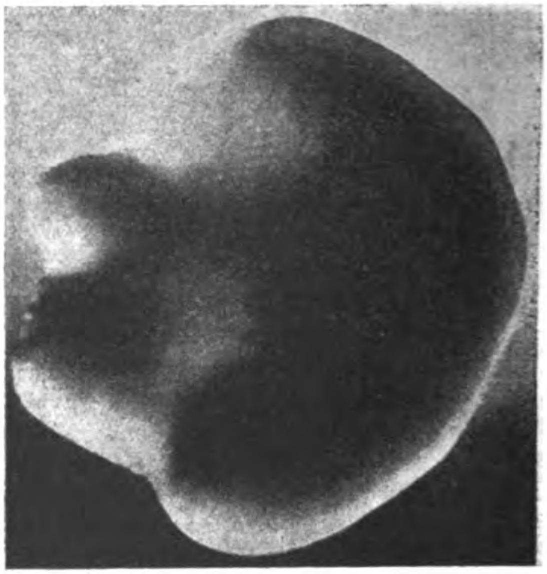


Fig. 11. Coli 7498. Flatterform (Hauptform).

Fig. 12. Coli 2525. Flatterform (Hauptform), bei Zimmertemperatur gewachsen, 3 Tage alt.

Von den Hauptformen bereits äußerlich leicht zu unterscheiden sind die Nebenformen. Sie stellen kleine und kleinste, meist sehr zarte, wenig erhabene, zum Teil ganz flache, zum Teil konfluierende, außerordentlich verschiedenartig gestaltete Kolonien dar, deren Oberfläche

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

durchgängig einen stumpfen, metallischen Glanz aufweist. Die Nebenformen haften äußerst zähe dem Nährboden an und lassen sich mit der Oese oder Nadel nur schwer von ihm abheben. Eine Anzahl von Nebenformen ist in den Figg. 13—17 wiedergegeben. Die Kleinheit und Zartheit einzelner Formen wird aus diesen Abbildungen unter Berücksichtigung der angewandten Vergrößerung (1 : 70 bis 1 : 80) ohne weiteres ersichtlich. Eigenartig und außerordentlich verschiedenartig ist die Oberflächenzeichnung der einzelnen Kolonien. Eine besonders bemerkenswerte Kolonieform ist in Fig. 16 dargestellt; es handelt sich um eine mikroskopisch kaum wahrnehmbare, ganz flache und zarte, ziemlich trockene Kolonie, die, wie ich bemerken muß, allerdings nur sehr vereinzelt auftrat. In Fig. 17 ist ein Abschnitt einer sehr zarten, mikroskopisch wiederum kaum sichtbaren, entlang des Impfstriches konfluierenden Bakterienmasse abgebildet, in der einzelne Gebilde als scheinbar selbständige Kolonien imponieren. Einige von ihnen weisen wiederum eine wunderschöne Oberflächenzeichnung auf, die in diesem Falle an ein Wollknäuel erinnert.

Fig. 13.

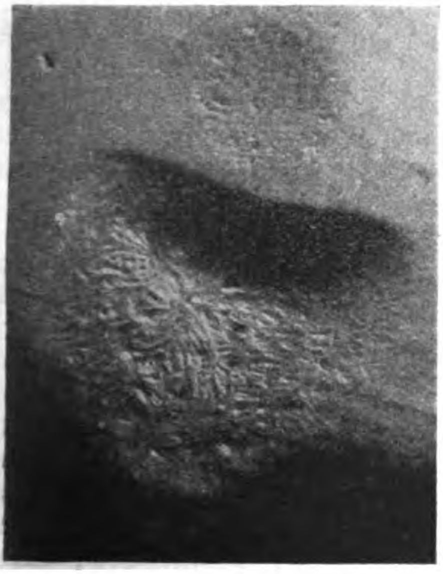


Fig. 14.

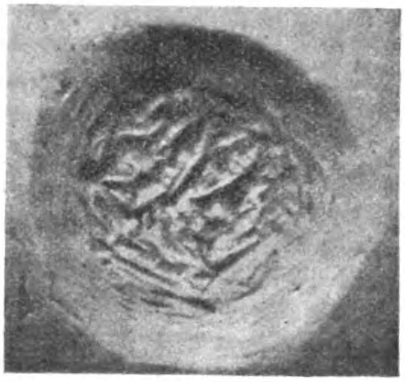


Fig. 13. Coli 2552. Flatterform (Nebenform).

Fig. 14. Ruhr y 9280. Flatterform (Nebenform).

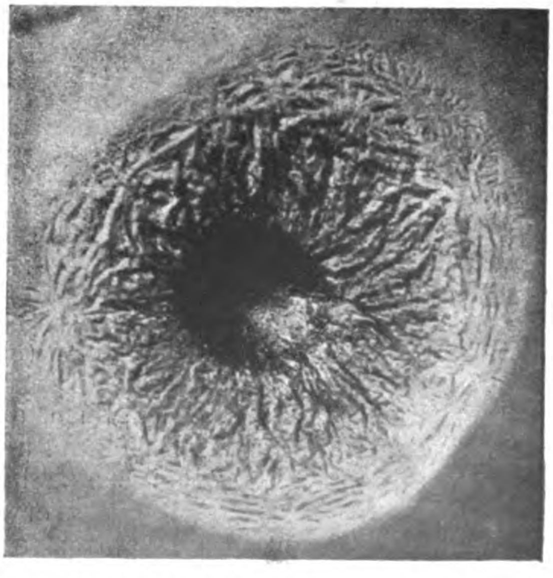


Fig. 15. Coli 3595. Flatterform (Nebenform).

Zwischen Haupt- und Nebenformen bestehen Zwischenformen, die dadurch gekennzeichnet sind, daß sie aus zwei verschiedenen Bestandteilen sich zusammensetzen, und zwar besteht der größere Teil der

Kolonie aus der Masse der Hauptformen und der kleinere Teil aus der der Nebenformen; der Anteil der letzteren ist an der Zartheit ihres Wachstums und an dem metallischen Oberflächenglanz zu erkennen. In den Figg. 18 und 19 sind derartige Zwischenformen wiedergegeben; die hellen, spornartigen Fortsätze bestehen aus der Bakterienmasse der Nebenformen. Bemerkenswert ist auch die unregelmäßige Gestaltung des Hauptteiles der Kolonie. In Fig. 20 ist eine vielgestaltige Zwischenform abgebildet, in deren Nähe mehrere kleinere und eine größere Nebenform liegen.

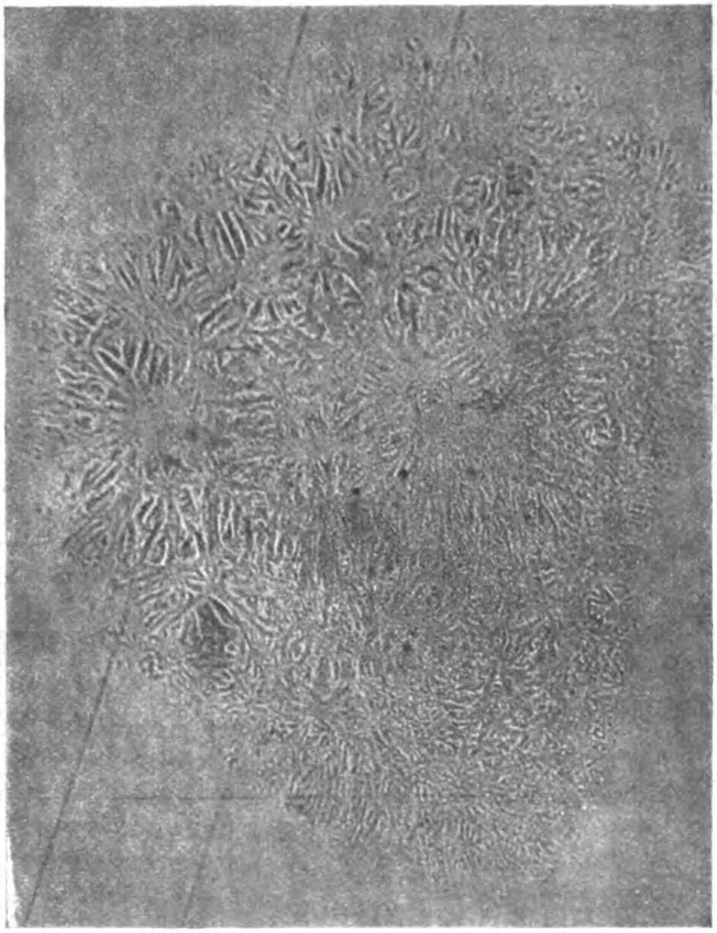


Fig. 16. Coli 2552. Flatterform (Nebenform).

Außer den genannten Formen waren regelmäßig bei der Weiterzucht, namentlich da, wo die Kolonien sich eng nebeneinander entwickelten, keilförmige, palissadenartig angeordnete Formen anzutreffen, deren Bakterienmasse vollkommen der der Hauptformen entsprach. Fig. 21 gibt derartige Formen wieder.

Schließlich sei noch einer Gruppe von Ringformen Erwähnung getan, die sich nur bei einem Coli-Stamm und nicht auf der Ausgangsplatte, sondern erst bei der Weiterzucht der Hauptformen fanden. Fig. 22 stellt eine ganz zarte Ringform dar, Fig. 23 eine Ringform mit einer zentralen, knopfartigen Erhebung und hervorragend schöner Oberflächenzeichnung und Fig. 24 eine einzelne, fast zugewachsene Ringknopfform.

Wie ich bereits eingangs erwähnte, waren von den aufgeführten Kolonietypen nur die Hauptformen in allen Fällen auf den Stuhlausstrichplatten zu beobachten. Als ich die ersten Stuhlplatten, auf denen gleichfalls nur Hauptformen zu sehen waren, zur Beobachtung bekam, schien mir die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen zu sein, daß irgendwelche örtlichen, durch den Nährboden oder durch benachbarte Kolonien bedingten Einflüsse das verstümmelte Wachstum der Kolonien, die zuweilen nur in einigen wenigen Exemplaren vorhanden waren, bewirkt hatten. Die Weiterzüchtung dieser Kolonien zeigte aber sehr bald, daß derartige äußere Einflüsse auszuschließen waren. Ich konnte

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

feststellen, daß das Koloniebild sich in derselben Weise, wie auf Drigalski-Agar auch auf Endo-Agar und auf gewöhnlichem 1,5-proz.

Fig. 17.

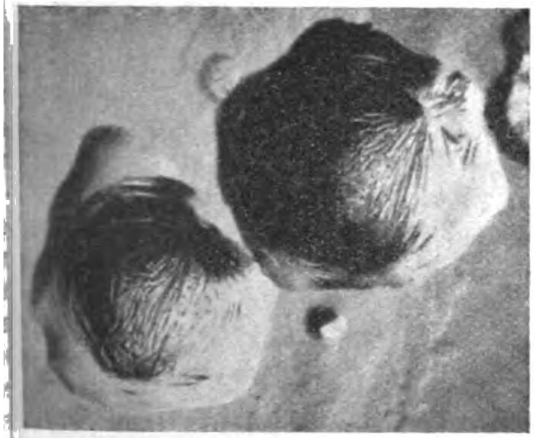


Fig. 18.

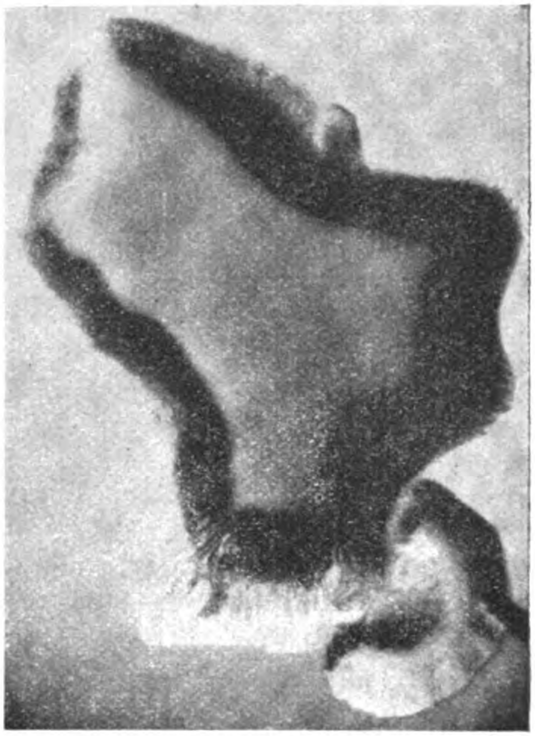


Fig. 17. Ruhr Y 7137. Flatterform (Nebenform).

Fig. 18. Coli 3555. Flatterform (Zwischenform).

Agar entwickelte. Auch auf Agarnährböden, die ich mir von anderen Stellen kommen ließ, erhielt ich die gleichen Koloniebilder.

Fig. 19.

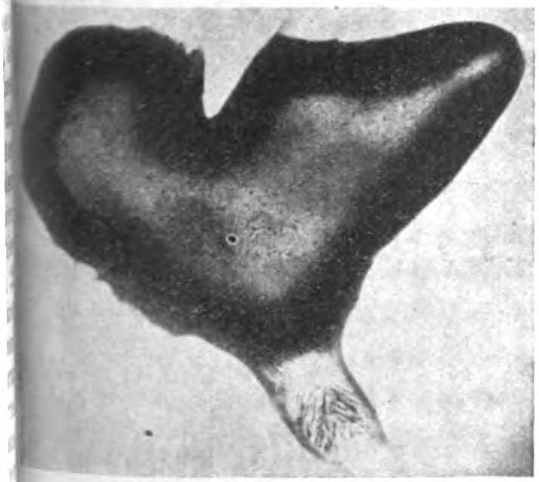


Fig. 20.

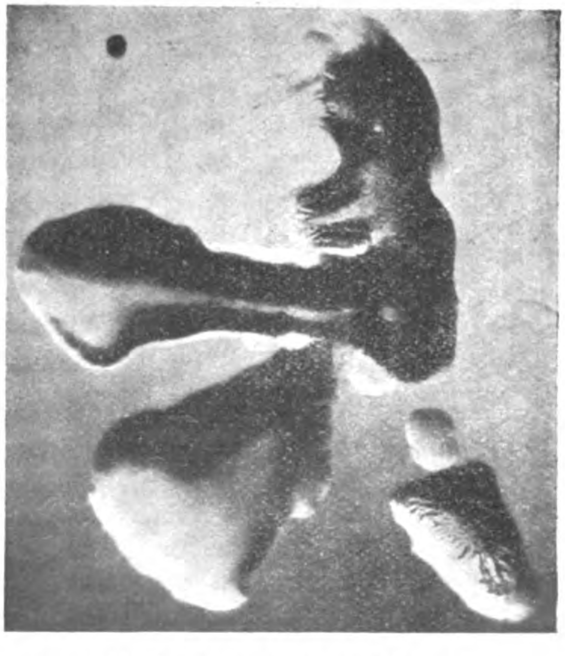


Fig. 19. Ruhr Y 413. Flatterform (Zwischenform).

Fig. 20. Ruhr Y 413. Flatterform (Neben- und Zwischenform).

Von besonderem Interesse ist nun das Verhalten der Gruppe der Flatterformen bei der Weiterzüchtung. Diese bot bei Ruhr-, Coli-

Typhus- und Paratyphusbacillen ein in den Hauptzügen im wesentlichen übereinstimmendes Bild. Es entwickelten sich bei Weiterimpfung von Hauptformen außer diesen stets Nebenformen, Zwischenformen, keilförmige Kolonien, bei Coli 3555 noch Ringformen und schließlich in allen Fällen Normalformen in wechselnder Anzahl. Letztere allein erwiesen sich als artbeständig, denn auch die Neben-, Zwischen- usw. Formen verhielten sich ihrerseits bei der Weiterzucht genau so labil wie die Hauptformen. Welche der Formen auch abgeimpft wurde, stets entstand ein Koloniebild, das außer Normalformen sämtliche aufgeführten Abarten darbot. Im Laufe meiner Untersuchungen kamen mehrfach

Fig. 21.

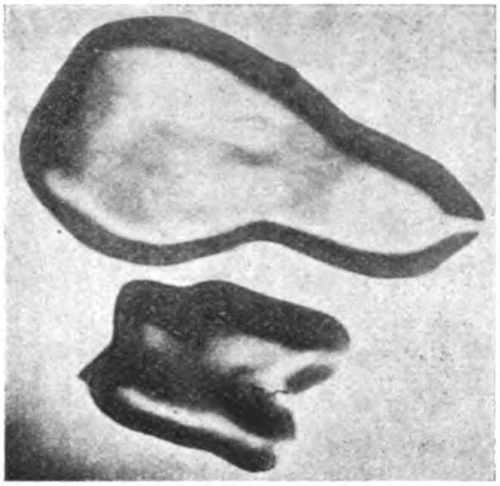


Fig. 22.

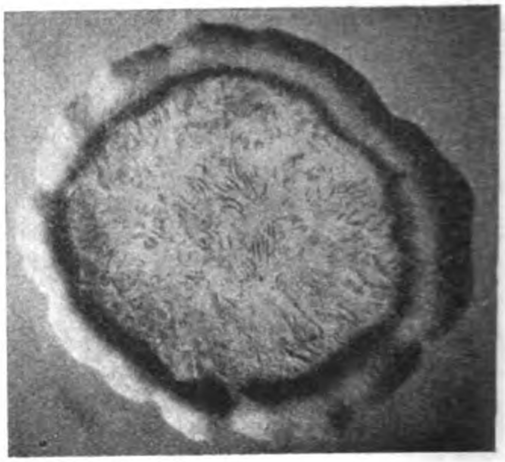


Fig. 21. Ruhr Y 413. Flatterform (keilförmige Kolonie).
Fig. 22. Coli 3555. Flatterform (zarte Ringform).

Fig. 23.

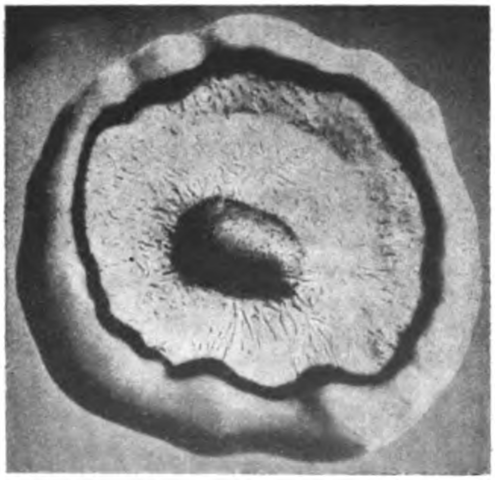


Fig. 24.

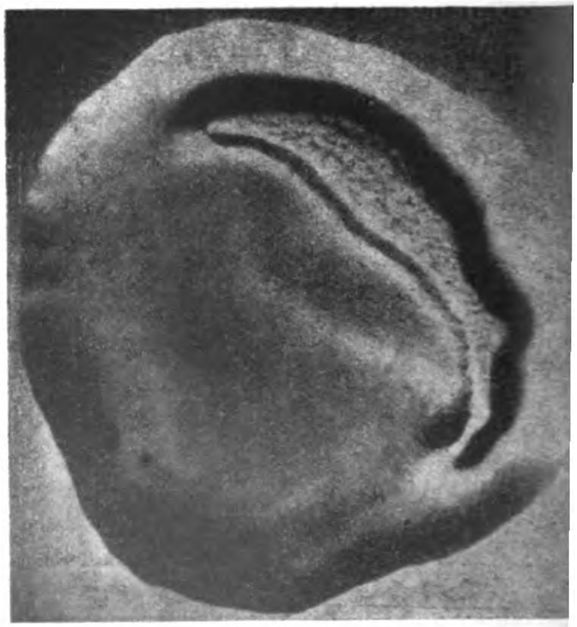


Fig. 23. Coli 3555. Flatterform (Ring mit knopfartigem Zentrum).

Fig. 24. Coli 3555. Flatterform (Ringform mit fast ausgefülltem Zentrum).

Stuhlausstrichplatten zur Beobachtung, auf denen von vornherein die beschriebenen, verschiedenartigen Koloniformen, also die ganze Gruppe der Flatterformen, gleichzeitig vorhanden waren.

Die beschriebene Koloniegruppe ist demnach eine in ihrer Formentwickelung äußerst labile, „flatterhafte“ und kann, da sie außerdem beständig Normalformen abspaltet, die alsdann konstant bleiben, einmal als beständig umschlagende und gleichzeitig als beständig spaltende Sippe im Sinne von Eisenberg bezeichnet werden.

Die mikroskopische Prüfung der diese Koloniegruppe bildenden Stäbchen ergab keine markanten Unterschiede gegenüber den Stäbchen von Normalformen. Die Stäbchen der verschiedenen Formen zeigten bei den verschiedenen Bakterienarten annähernd übereinstimmende Gestalt und Größenverhältnisse. Sie waren meist etwas länger als die Stäbchen der Normalformen und wiesen des öfteren Fadenbildung auf.

In serologischer Beziehung verhielten sich die Flatterformen des Typhus- und Paratyphusbacillus regelrecht; sie waren zwar schwer verreibbar, wurden aber durch hochwertiges Serum prompt agglutiniert. Etwas abweichend hiervon verhielten sich einige Flatterformen des Ruhrbacillus, die keine oder keine nennenswerte Agglutination erkennen ließen, während die von ihnen abgespalteten Normalformen ohne weiteres bis zur Titergrenze agglutiniert wurden. Ich möchte bei dieser Gelegenheit erwähnen, daß ich in Ruhrstühlen noch eine andere Ruhrkolonieform (trübe Form, im Gegensatz zur normalen hellen Form) mehrfach angetroffen habe, die durch spezifisches Serum nicht agglutiniert wurde und die beim Altern regelrecht agglutinable Normalformen abspaltete. Wie mir aus mündlichen Mitteilungen bekannt ist, verfügt Baerthlein über gleiche Beobachtungen, die insbesondere in diagnostischer Beziehung unser lebhaftes Interesse beanspruchen.

Es war nun noch die Frage zu prüfen, ob die verschiedenen Typen der Gruppe der Flatterformen bei Züchtung in Bouillon oder auf Schrägagar ihre Eigenschaften und Fähigkeiten bewahren würden. In dieser Richtung angestellte Versuche ergaben ein positives Ergebnis. Aus Bouillon- wie aus Schrägagarkulturen, die von verschiedenen Formen der Gruppe angelegt worden waren, konnten in Ausstrichen, die nach verschieden langer Zeit (bis zu 6 Wochen) gemacht wurden, immer wieder die gleichen, oben beschriebenen Kolonieformen erhalten werden, und zwar traten in ähnlicher Weise wie auf den Stuhlausstrichplatten zwischen zahlreichen Normalformen meist nur vereinzelte Hauptformen, seltener andere Formen auf. Es gelang ferner, aus Reinkulturen von Normalformen, die von Hauptformen abgespaltet worden waren, nach mehrwöchiger Bebrütung in Ausstrichen wieder verstümmelte Kolonieformen, also Hauptformen, die bei der Weiterzucht alle Merkmale der Ausgangskolonie boten, zu gewinnen. Schließlich gelang es auch, aus einer alten Bouillonkultur eines bei der Isolierung aus Stuhl in seiner Koloniebildung durchaus normal befundenen Coli-Stammes verstümmelte Kolonieformen zu erhalten, womit bewiesen ist, daß derartige Formen sich nicht nur bei Isolierung aus dem Organismus finden, sondern auch in alternden Kulturen entstehen können.

Erwähnt sei noch, daß ich mehrfach auf Stuhlausstrichplatten verstümmelte Kolonieformen antraf, die ihrem Aussehen nach Hauptformen entsprachen, aber im allgemeinen die zähschleimige Beschaffenheit vermissen ließen. Sie zeigten auch noch insofern ein abweichendes Verhalten, als sie bei der Weiterzüchtung außer Normalformen zwar auch wieder verstümmelte Formen, wie auf der Ausgangsplatte, aber in keinem Falle das reichhaltige Bild der übrigen Formen der vorigen Gruppe entwickelten.

Zusammenfassung.

1) Das Bact. coli weist bei seiner Isolierung aus dem Organismus verhältnismäßig häufig von der Norm abweichende Kolonien auf, unter denen 3 wohlcharakterisierte, bei der Weiterzüchtung konstant bleibende Hauptarten zu unterscheiden sind.

2) Vornehmlich Ruhr- und Coli-Bacillen, aber auch Typhus-, Paratyphus B- und paratyphusähnliche Bacillen bilden in einer nicht unerheblichen Zahl von Fällen auf Stuhlausstrichplatten eine bei den verschiedenen Bakterienarten in ihren Hauptmerkmalen übereinstimmende Gruppe von eigenartig unregelmäßig gestalteten und verschiedenartigen Kolonien, die weiterhin dadurch ausgezeichnet sind, daß die einzelnen Formen dieser Gruppe bei der Weiterzucht keine reine Nachkommenschaft liefern, sondern beständig ineinander umschlagen und beständig Normalformen abspalten, die dann konstant bleiben. Wegen ihrer Unbeständigkeit in der Formenbildung und ihrer Labilität bei der Weiterzucht habe ich die Koloniengruppe als „Flatterformen“ bezeichnet.

Literaturverzeichnis.

Baerthlein, Arb. aus dem Kais. Gesundheitsamte. Bd. 40. 1912. S. 433.
Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. 1914. S. 449. — Ergebnisse der Immunitätsforsch., exp. Ther., Bakt. u. Hyg. Bd. 1. 1914. S. 28.
Gildemeister, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. S. 129 u. 209.
v. Lingelsheim, Ebenda. Bd. 68. 1913. S. 577.

Nachdruck verboten.

Ergebnisse der Untersuchung von 100 mittels der K.H.-Reaktion zum Zwecke der Feststellung syphilitischer Infektionen geprüften Serumproben.

[Aus der Medizinaluntersuchungsstelle der Kgl. Regierung und der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser Wilhelm-Instituts für Landwirtschaft zu Bromberg.]

Von **W. Pfeiler**,
Vorsteher der Abteilung für Tierhygiene, früherem stellvertretenden Leiter der Medizinaluntersuchungsstelle.

In No. 12 der Münch. med. Wochenschr., 1915, S. 393, ist über die gleichzeitige Verwendung des Hämolysins und Hämagglutinins als Indikatoren bei der Komplementablenkungsreaktion zur Feststellung der Syphilis in kurzen Zügen berichtet worden. Das seinerzeit mitgeteilte

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Verfahren, das als K.H.-Reaktion (= Komplementablenkung + Hämagglutination) bezeichnet worden ist, ist inzwischen in einer weiteren und nicht mehr geringen Zahl von Fällen mit Ergebnissen angewandt worden, die einer besonderen Besprechung wert erscheinen.

Inzwischen ist auch die Technik vervollkommnet worden. Nach dieser Seite bedarf die erste Mitteilung einer Ergänzung, die hiermit, unter teilweiser Wiederholung der ursprünglichen Angaben, gegeben sei.

Vor allem hat die Anordnung des Vorversuches eine Aenderung erfahren. Das normale Rinderserum — zur Hämolyse gegenüber roten Blutkörperchen des Meerschweinchens und Pferdekomplement [1]) — wird zunächst in der früher beschriebenen Weise ausgewertet, nachdem es auf 54° C inaktiviert und dann mit $^1/_2$ Proz. Karbol versetzt worden ist (in diesem Zustande ist es lange Zeit haltbar und für viele Hunderte von Versuchen ausreichend). Die Auswertung zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1.

Titration des inaktiven Rinderserums [2]).

Rinderserum		0,01	0,005	0,004	0,003	0,002	0,001	0,0008	0,0005	0,0003	0,0001
Pferdeserum	0,08	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,05	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,03	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	0,01	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Gleichzeitig ist in diesem Versuche die Titration des Pferdekomplements angegeben. Darin besteht, gegenüber der früheren Versuchsanordnung, eine, wie sich gezeigt hat, sehr bedeutungsvolle Aenderung. Beim Wassermannschen Verfahren ist man aus besonderen Gründen nicht in der Lage, mit der kleinsten lösenden Komplementmenge zu arbeiten, was die Ergebnisse praktisch in vielen Fällen beeinflußt, bei der K.H.-Reaktion ist dies aber prinzipiell möglich. In unserem Falle muß bei Benutzung von 0,05 ccm Pferdekomplement das Rinderserum in einer Menge von 0,02 reinen Serums, bzw. 0,1 ccm der Verdünnung 1:5, d. h. in der doppelten, gerade noch lösenden Dosis, Verwendung finden, wenn für die Beurteilung des Versuches die kleinste lösende Komplementmenge zugrunde gelegt wird. Dabei ist zu beachten, daß das Ansetzen der Titration mit Komplementmengen über 0,08 so gut wie nie notwendig ist. Klarheit über die Titerhöhe bekommt man bei Benutzung höherer Pferdekomplementmengen nämlich nicht, da sie an sich schon lösend auf die roten Blutkörperchen des Meerschweinchens wirken, wie in unserem Versuche auch bei 0,08 Pferdekomplement [3]) noch überall Lösung zu verzeichnen ist.

---

[1]) Aus welchem Grunde die Verwendung dieser Substanzen besondere Vorteile bietet, wird an Hand von Ausführungen, die durch mich in der Bromberger militärärztlichen Vereinigung am 1. Februar d. J. gemacht worden sind, an anderer Stelle mitgeteilt werden.

[2]) Zeichenerklärung:
— = Lösung
+ = Ausbleiben der vollständigen Lösung (schwache Hämagglutination)
++ = „ „ „ „ (starke „)
+++ = fast vollständige Hemmung der Reaktion
++++ = vollständige Hemmung der Reaktion
. = Reaktion nicht ausgeführt.

[3]) Aus diesem Grunde läßt sich die K.H.-Reaktion auch ohne Benutzung von Rinderserum ausführen. Ueber diese Arbeiten und ihre Ergebnisse wird noch berichtet werden.

Die einmalige Einstellung des alkoholischen Ochsenherz-Cholestearinextraktes einige Zeit nach dessen Herstellung genügt. Der so ausgewertete Extrakt kann in der gleichen Konzentration weiter gebraucht werden. Er wird in der Weise titriert, wie dies Tabelle 2 anzeigt:

Tabelle 2.
Titration des Extraktes.

Extrakt	0,3	0,2	0,15	0,1	0,08	0,06	0,05	0,04
	++	++	+	—	—	—	—	—

Zur Verwendung kommt die halbe Dosis derjenigen, die volle Lösung ergeben hat, in unserem Falle also die Hälfte von 0,1 = 0,05. Die jedesmalige Auswertung des Extraktes vor dem Gebrauch ist deshalb nicht notwendig, weil bei der täglich vorzunehmenden Komplementtitration der Extrakt sich gewissermaßen automatisch gegenüber dem Komplement einstellt, wie dies die Tabelle 3 wiedergibt:

Tabelle 3.
Titration des Komplements.

Pferdeserum	0,1	0,09	0,08	0,07	0,06	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01
mit 0,05 ccm Extr.	—	—	—	—	—	+	++	++	++	++

Für die Feststellung der Komplementmenge ist es absolut erforderlich, daß nicht die wirkliche kleinste, sondern stets ein Ueberschuß von 0,02 über die tatsächlich ermittelte kleinste gebraucht wird. Sind also, wie in unserem Versuche, 0,06 ccm Komplement zur vollständigen Lösung der roten Blutkörperchen bei Gegenwart von Extrakt notwendig, so werden im eigentlichen Versuche 0,08 ccm angewandt. Die Bindungszeit beträgt dabei, wie auch im eigentlichen Ablenkungsversuch, nach Einfüllung des Komplements und Extraktes, $^1/_4$ Stunde.

Zur Sichtbarmachung des Eintrittes der Ablenkung bedienen wir uns, wie früher, der 1-proz. Meerschweinchen-Blutkörperaufschwemmung, und zwar in der geringen Menge von 1 Tropfen.

Nunmehr wird der eigentliche Versuch mit dem bzw. den zu untersuchenden Seren genau in der seinerzeit von uns angegebenen Weise angesetzt.

Ueber die Ergebnisse der auf diese Weise vorgenommenen Prüfung von 100 zur Einsendung gekommenen Seren sei hierunter berichtet.

Die Tabelle 4 bringt die Ergebnisse (86 Fälle), wo entweder nach der positiven oder nach der negativen Seite hin Uebereinstimmung erzielt worden ist. Wie in der früheren Mitteilung, fällt auf, daß bei positivem Wassermann in dieser Gruppe der Ausfall der K.H.-Reaktion in nicht wenigen Fällen bedeutend stärker ist, als der der Wassermannschen Reaktion. Schon aus diesem Umstande kann geschlossen werden, daß, wenn diese Sera später noch einmal zur Untersuchung gekommen wären, der Ausfall der K.H.-Reaktion, bei einzelnen Patienten wenigstens, noch positiv gewesen wäre, während der gleichzeitig ausgeführte Wassermann sich vielleicht schon negativ gezeigt hätte. Fälle, wo dies tatsächlich der Fall war, sind unter den geprüften 100 Seren 14 beobachtet worden (Tabelle 5).

Unter den 86 Fällen, wo Uebereinstimmung in den Ergebnissen zwischen Wassermann bzw. Stern und der K.H.-Reaktion erzielt worden ist, befanden sich 50, die negative serologische Befunde ergeben haben. Der Verdacht der Syphilis war in diesen Fällen meistens nur ein geringer. In einem Teil derselben sind anamnestische Angaben entweder nicht übermittelt, oder es ist nur der Verdacht der Syphilis ausgesprochen worden.

Für die Mehrzahl der Fälle (5439, 5443, 2971, 5475, 5525, 5530, 5667, 5670, 5841, 5842, 5854, 6067, 6070, 6087, 6098, 7057—7233, 7251, 7440, 7611, 57, 145, 147, 148, 151, 163, 161, 193, 195, 198), wo die Wassermannsche Reaktion und die K.H.-Reaktion, auch der Stern, soweit er mit Rücksicht auf die eingesandte Blutmenge ausgeführt werden konnte, negativ waren, darf angenommen werden, daß der Luesverdacht nicht begründet bzw. der serologische Nachweis der Infektion überhaupt nicht mehr oder zurzeit nicht zu erbringen war. Für den Fall 5523 liegt noch die nähere Angabe vor, daß eine provokatorische Salvarsaninjektion ein Ergebnis nicht gezeitigt habe. Die Fälle 5524 und 5526 werden als schlechtweg verdächtig bezeichnet; ob der Verdacht begründet war, war nicht zu ermitteln. Die Endocarditis und Aortitis im Falle 5580 dürften nicht auf luetischer Basis beruhen. Der Fall 5604 ist als Lues cerebri im Sekundärstadium aufgefaßt worden. Hier würde also ein Nichtanzeigen der Lues durch die Blutuntersuchung vorliegen, das in gleicher Weise, wie den Wassermann, auch die K.H.-Reaktion betrifft. Der Fall 5671 ist gleichfalls negativ gewesen; die anamnestischen Angaben beschränken sich darauf, die Erkrankung auf das Jahr 1912 zurückzuführen. Im Falle 5843 wird auf Grund des Habitus und zweier Fehlgeburten sowie des zytologischen Blutbildes (? d. Verf.) die luetische Infektion ärztlicherseits (Stigmat. vasomotor. et trophoneurotic. cum plethora polycythaem.) angenommen, durch die Patientin jedoch bestritten. Die Diagnose erscheint durch diese Angaben nicht genügend gesichert. Im Fall 5857 ist die Infektion vor 13 Jahren erwiesen, der Wassermann soll 2 Monate vor der Blutentnahme in Bromberg, bei Untersuchung an anderer Stelle, positiv gewesen sein. Arsenkur: Wassermann, Stern sowie K.H.-Reaktion nunmehr negativ[1]). Fall 6025 ist ein Fall von Tabes dorsualis incipiens. Auch hier negativer Befund bei allen 3 Reaktionen. Ueber die Fälle 6058—6060 ist nichts weiter bekannt, als daß die Erkrankung seit 1914 bzw. 1915 datiert. Ob die Krankheit wirklich Lues ist, wird nicht angegeben, dürfte aber ärztlicherseits angenommen worden sein. Da die Infektionen in 2 Fällen erst im Jahre 1915 erfolgt sind, die betreffenden Untersuchungen aber im März vorgenommen wurden, ist die Diagnose „Syphilis" nicht feststehend, da dann wohl die Gegenwart von Antikörpern anzunehmen gewesen wäre. In diesen Fällen ist also ein Versagen der Reaktionen nicht ohne weiteres als vorliegend zu erachten.

Soweit negative Versuchsergebnisse erzielt worden sind, hat mithin in einigen wenigen Fällen, wo Wassermann bzw. auch Stern negativ waren, auch die K.-H.-Reaktion den gleichen Ausschlag gegeben. Da nach der serologischen Erfahrung bei allen Krankheiten Fälle von völligem Schwund

---

[1] Vgl. Fall 5474 der Tabelle 5.

Tabelle 4.

Untersuchungsnummer des Serums	Wassermannsche Reaktion					Sternsche Modifikation		K.H.-Reaktion							
	0,2	0,1	0,04	0,02	Kontrolle (ohne Extrakt)	0,2	Kontrolle (ohne Extrakt)	0,2	0,1	0,05	0,02	0,008	0,005	0,002	Kontrolle (ohne Extrakt)
5439	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5443	—	—	—	—	—	.	.	—	—	—	—	—	—	—	—
2971	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5475	—	—	—	—	—	.	.	—	—	—	—	—	—	—	—
5522	++++	+++	+	+	—	.	.	++++	+++	+++	—	—	—	—	—
5523	—	—	—	—	—	.	.	—	—	—	—	—	—	—	—
5524	—	—	—	—	—	.	.	—	—	—	—	—	—	—	—
5525	—	—	—	—	—	.	.	—	—	—	—	—	—	—	—
5526	—	—	—	—	—	.	.	—	—	—	—	—	—	—	—
5530	—	—	—	—	—	.	.	—	—	—	—	—	—	—	—
5580	—	—	—	—	—	.	.	—	—	—	—	—	—	—	—
5604	—	—	—	—	—	.	.	—	—	—	—	—	—	—	—
5605	++++	++++	++	—	—	++++	—	++++	++++	+++	++	++	—	—	—
5606	++++	++++	+++	—	—	+++	—	++++	++++	++++	+++	+++	++	—	—
5652	+	—	—	—	—	—	—	++++	+++	++	+	—	—	—	—
5653	++++	++++	+++	++	—	+	—	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	—
5667	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5670	—	—	—	—	—	.	.	—	—	—	—	—	—	—	—
5671	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5676	++	+	—	—	—	.	.	++++	+++	+++	+++	++	+	—	—
5705	+	+	—	—	—	.	.	++	++	—	—	—	—	—	—
5714	+++	+	—	—	—	+	—	++++	+++	+++	++	—	—	—	—
5744	+++	++	—	—	—	.	.	+++	+++	—	—	—	—	—	—
5757	+++	++	++	—	—	+++	—	++++	++++	+++	++	—	—	—	—
5758	+	+	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	+	—	—	—	—
5839	++	+	+	+	—	+	—	+++	+++	+++	++	+	—	—	—
5840	++++	++++	++++	++	—	++++	—	++++	++++	++++	+++	+++	++	+	—
5841	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5842	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5843	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5854	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5857	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5889	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6023	++	++	—	—	—	—	.	+++	++	++	—	—	—	—	—
6024	++++	+++	+	+	—	++++	—	++++	+++	++	++	+	—	—	—
6025	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6057	++++	+++	++	—	—	.	.	++++	+++	+++	—	—	—	—	—
6058	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6059	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[illegible]	—	—	—	—	—	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
6061	++++	+++	++	—	—	++++	—	++++	+++	+++	—	—	—	—	—
6062	+++	++	+	—	—	·	·	+++	++	+	—	—	—	—	—
6067	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6068	++	++	+	+	—	++	—	++++	++++	++++	++	—	—	—	—
6069	++++	+++	++	—	—	·	·	++++	+++	+++	++	+	—	—	—
6070	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6087	—	—	—	—	—	·	·	—	—	—	—	—	—	—	—
6088	++++	+++	+++	++	—	++++	—	++++	+++	+++	+++	—	—	—	—
6096	++++	++++	+++	+	—	++++	—	++++	++++	+++	+++	+++	+	—	—
6097	++++	++++	++	+	—	++++	—	++++	++++	+++	+++	++	—	—	—
6098	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7003	++++	++++	++++	+	—	++++	—	++++	++++	++++	+++	+	—	—	—
7057	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7059	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7063	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7070	—	—	—	—	—	·	·	—	—	—	—	—	—	—	—
7071	—	—	—	—	—	·	·	—	—	—	—	—	—	—	—
7072	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7075	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7076	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7082	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7233	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7234	++++	++++	++++	+++	—	++++	—	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	—
7250	+++	+	—	—	—	·	·	+++	+++	++	+	—	—	—	—
7251	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7439	++	—	—	—	—	·	·	++++	++++	+++	—	—	—	—	—
7440	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7611	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
47	++++	++++	+++	+++	—	++++	—	++++	++++	++++	+++	+++	++	+	—
57	—	—	—	—	—	·	·	—	—	—	—	—	—	—	—
145	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
146	++++	++++	++++	+	—	·	·	++++	++++	++++	+++	+	—	—	—
147	—	—	—	—	—	·	·	—	—	—	—	—	—	—	—
148	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
149	++++	++++	++	—	—	·	·	++++	++++	+++	+++	+++	+	—	—
150	++++	++++	+++	—	—	·	·	++++	++++	++++	++++	+++	—	—	—
151	—	—	—	—	—	·	·	—	—	—	—	—	—	—	—
161	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
163	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
164	+	—	—	—	—	·	·	++++	++++	++	++	—	—	—	—
165	++++	++++	+++	+	—	++++	—	++++	++++	++++	+++	+++	—	—	—
166	++++	++++	++++	++++	—	++++	—	++++	++++	++++	++	++	—	—	—
192	++++	++++	++++	+++	—	++++	—	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++	—
193	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
195	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
198	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

der diagnostisch verwertbaren Antikörper vorkommen, dürfte es sich bei den verzeichneten um solche handeln, wo diese vorübergehend oder ganz geschwunden sind. Hier sind also durch die Verhältnisse in der Natur den Methoden Grenzen gezogen, die auch die Leistungsfähigkeit der K.H-Reaktion zu beeinflussen scheinen.

Was die übereinstimmenden positiven Funde anlangt, so fällt, wie erwähnt, auf, daß die bei der K.H.-Reaktion ermittelten Werte in einer nicht geringen Zahl höhere sind als bei der Ablenkung nach v. Wassermann. In dieser Beziehung seien aus den übrigen die Fälle 5652, 5758 und 164 als besonders markant hervorgehoben. Abgesehen davon, daß bei der K.H.-Reaktion mit der annähernd kleinsten lösenden Menge von Komplement, im Gegensatz zur Wassermannschen Reaktion, weiterhin mit einem niedrigwertigen hämolytischen Serum, das von einem nicht vorbehandelten Tiere stammt, gearbeitet wird, wo also die Möglichkeit zur Sprengung einmal eingetretener Bindungen lange nicht so stark ist als unter Benutzung eines hochwertigen hämolytischen Immunserums, mag dieses darauf zurückzuführen sein, daß die zu untersuchenden Serummengen bei der K.H.-Reaktion lange nicht die Verdünnung erfahren wie im Wassermannschen Versuch, wo die Menge der Flüssigkeit insgesamt 5 (bzw. beim Arbeiten mit halben Mengen 2,5) ccm beträgt, während bei der K.H.-Reaktion 0,2 ccm Patientenserum sich in insgesamt 1,3 ccm Reaktionsflüssigkeit verteilt befinden. Endlich mag auch noch die Wirkung des Hämagglutinins, die unabhängig von der des Komplements erfogt, den markanteren Ausfall der Reaktion mit bedingen.

Auch für die Fälle mit positivem serologischen Befund ist bei weitem nicht durchgängig das Vorliegen der Syphilisinfektion durch schriftliche Angaben gesichert. Doch wird man sich beim Bestehen des klinischen, anamnestischen oder sonst eines anderen Verdachtes viel eher auf den Standpunkt stellen können, die syphilitische Infektion als erwiesen anzusehen, wenn der Serumbefund in diesem Sinne, und zwar übereinstimmend bei mehreren Reaktionen, spricht.

Für den Fall 5522 ist Tabes dorsualis incipiens auf dem Begleitzettel vermerkt gewesen. In den Fällen 5605 und 5606 mit positivem Befund auch nach Marg. Stern ist Lues II bzw. III angegeben worden. Im Falle 5652 fehlen solche Angaben, ebenso bei 5653; im letzteren Falle war auch die Sternsche Modifikation positiv. Der Ausfall der Reaktion war hier auch nach Wassermann so stark, daß die Diagnose, mit Rücksicht auf den Verdacht der Lues, nicht in Frage gestellt erscheint. Bei diesen Fällen sei, vorwegnehmend für andere, in Würdigung des Gesagten darauf hingewiesen, daß bei der K.H.-Reaktion der kleinste Bindungswert bei 0.005 noch denselben Stärkegrad zeigte, wie bei der Wassermannschen Reaktion die Serummenge 0.02, der Bindungswert also 4fach größer war. Im Fall 5676 wird die Erkrankung bis zum Jahre 1909 zurückdatiert. Bei 5705 fehlen solche Angaben, ebenso für 5757, 5758, 5839, 5840, 6023, 6024, 6068, 6069, 6088, 6096, 6097, 7003, 7234, 47, 146, 149, 150, 164—166 und 192. Der starke Hemmungsgrad, bei der K.H.-Reaktion sowohl wie bei Wassermann und in einem Teil der Fälle bei der Modifikation nach Stern, sprechen gleichwohl dafür, daß es sich um luetische Infektionen gehandelt hat. Der Fall 5714 verzeichnet als klinische Notiz Hyperthyreosis (Arthralgia luetica?). 6057 ist seit 6 Jahren krank. Bei 6061 und 6062 endlich liegt die Infektion zurück bis zum Januar 1915.

Tabelle 5.

Untersuchungs-Nr. des Serums	Wassermannsche Reaktion					Sternsche Modifikat.		K.H.-Reaktion							
	0,2	0,1	0,05	0,02	Kontrolle (ohne Extr.)	0,2	Kontrolle (ohne Extr.)	0,2	0,1	0,05	0,02	0,008	0,005	0,002	Konrolle (ohne Extr.)
5442	—	—	—	—	—	.	.	++	.	.	.	.	.	.	—
5474	—	—	—	—	—	+	—	+++	++	++	—	—	—	—	—
5521	—	—	—	—	—	—	—	++	++	++	—	—	—	—	—
5602	—	—	—	—	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	—
5603	—	—	—	—	—	—	—	++	+	—	—	—	—	—	—
5672	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
7064	—	—	—	—	—	+	—	++	—	—	—	—	—	—	—
7419	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++	++	—	—	—	—	—
7438	—	—	—	—	—	—	—	+++	++	+	—	—	—	—	—
7612	—	—	—	—	—	—	—	+++	++	+	—	—	—	—	—
45	—	—	—	—	—	.	.	+	—	—	—	—	—	—	—
162	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—	—	—	—
194	—	—	—	—	—	+++	—	+++	+++	+	—	—	—	—	—
196	—	—	—	—	—	.	.	++++	++++	+++	+++	+	—	—	—

Auch für die Fälle in Tabelle 5 fehlen bedauerlicherweise teilweise Angaben über den Befund bei den Kranken, so bei 5442 (negativer Wassermann, Stern nicht ausgeführt, K.H.-Reaktion 0,2). Der Fall 5474, der bereits in der Tabelle 4 unter 5857 erwähnt und näher beschrieben ist. zeigt hier bei negativem Wassermann und etwas gehemmter Sternscher Reaktion einen deutlichen Ausschlag bei der K.H.-Reaktion. Die syphilitische Infektion ist, wie erwähnt, sichergestellt. Die Untersuchung unter 5857 mit negativem Befund bei Wassermann, Stern und der K.H.-Reaktion ist nach Vollzug einer Arsenkur vorgenommen worden, liegt also zeitlich später als die unter 5474. Hier ist also das Schwinden der die K.H.-Reaktion auslösenden Stoffe im Verlauf der Arsenbehandlung zu erwähnen[1]). Im Fall 5521 ist Status lymphoasthenic. universal. angegeben. Bei 5602 wird „Aneurysma" mitgeteilt, im Fall 5603 Primäraffekt vor 14 Tagen, Exzision 10 Tage vor der Blutentnahme, Beginn der Salvarsankur 2 Tage vorher. Hier sind also Wassermann und Stern noch negativ, die K.H.-Reaktion schon positiv, ein Verhalten, das auch beim Rotz der Pferde beobachtet worden ist. Für 5672 ist die Infektion auf den 8. Jan. 1915 angegeben. Die Untersuchung fand am 20. Febr. statt; auch hier ist wieder das Fehlen von ablenkenden Stoffen im Versuch nach Wassermann und Marg. Stern festzustellen, während die K.H.-Reaktion deutlich positiv ist. Angaben über die Be-

---

1) Die Frage des Verhaltens der durch die K.H.-Reaktion darstellbaren Antikörper im Verlaufe der Behandlung wird an anderer Stelle weitergehend geschildert werden.

handlung fehlen. Der Patient 7064 ist 7 Jahre krank, die Sternsche Reaktion schwach positiv bei fehlendem Wassermann und deutlicher K.H.-Reaktion. Der Patient 7419 hat sich vor 19 Jahren infiziert, ist des öfteren in antisyphilitischer Behandlung gewesen, zeigt nach eigenen Beobachtungen des Verf. — es handelt sich um einen Schauspieler — die Zeichen beginnender Tabes. Ueber 7438 fehlen Angaben, ebenso über 7612 und 45. Im Fall 162 ist die Infektion im März 1915 erfolgt, einige Zeit vor der Blutentnahme, in den Fällen 194 und 196 im August bzw. Dezember 1914, bei 194 ist die Sternsche Reaktion positiv.

Die mitgeteilten 100 untersuchten Fälle zeigen in 14 Proz. ein Vorliegen positiver Reaktionen bei der K.H.-Reaktion, wo die Untersuchung nach v. Wassermann negativ war, aber nach Lage der Sache die Diagnose Lues fast ausschließlich gesichert erscheint. Die Feststellung dieser Tatsache erscheint noch wesentlicher, wenn man die bei der serologischen Untersuchung als negativ ermittelten Fälle ausscheidet und diejenigen der Berechnung zugrunde legt, bei denen eine der Reaktionen positiv war. Es ergeben sich dann unter 49 überhaupt nach einem der angewandten Verfahren positiven Fälle 14, bei denen die K.H.-Reaktion den Verdacht der Syphilis anzeigt, während nach der Wassermannschen Methode nur 35 Fälle positiv sind. Die K.H.-Reaktion hat also bei dem vorliegenden Material, auf 100 positive Fälle berechnet, in rund 30 Proz. der Fälle mehr das Vorliegen einer syphilitischen Infektion angedeutet.

Für die Bewertung dieses Verhältnisses sei auf die Ausführungen verwiesen, die ich anläßlich meiner ersten Publikation über die K.H.-Reaktion zur Feststellung der Syphilis gemacht habe (siehe vorn). Erst die Aufnahme des Verfahrens an dermatologischen Kliniken bzw. größeren Krankenhäusern mit eigenen Untersuchungsstellen, wo bestimmte Patienten längere Zeit im Auge behalten werden können, wird zeigen, ob wir in der K.H.-Reaktion eine Bereicherung der diagnostischen Methoden bzw. ein wertvolles Kontrollverfahren zu sehen haben werden. Die Erfahrungen beim Rotz der Pferde, bzw. anderen Infektionskrankeiten der Haustiere sprechen für die Berechtigung einer solchen Annahme.

Nachdruck verboten.

Zur Bakteriologie der Ruhr im Kriege[1].

Von Dr. **E. Seligmann,**
Stabsarzt beim beratenden Hygieniker einer Armee.

Auch der dritte Kriegssommer brachte im Felde Ruhrerkrankungen. In unserer Armeeabteilung mehrten sich mit Beginn der heißen Jahreszeit die Darmerkrankungen, vereinzelt kam es zu blutigen Stuhlgängen, bis plötzlich die Ruhr da war. Ziemlich schnell war der Höhepunkt erreicht, schon im September flaute die Krankheit ab.

Die bakteriologischen Erfahrungen des Vorjahres hatten für unsere Armee gezeigt, daß im Beginn überraschend wenig Ruhrbacillen gefunden wurden; allmählich traten die verschiedenen Typen (Shiga-Kruse, Flexner, Y) auf, bis schließlich auf der Höhe der Shiga-Kruse-Bacillus allein und einheitlich das Bild beherrschte. Nachuntersuchungen Genesener lehrten, daß die Bacillen ziemlich schnell aus dem Stuhle verschwanden; seit Ende November 1915 wurde in dem Laboratorium des beratenden Hygienikers, dessen Untersuchungen ich leitete, kein positiver Befund mehr erhoben.

Mit diesen Erfahrungen gerüstet, gingen wir in das Jahr 1916. Zahlreiche Stuhluntersuchungen des Laboratoriums (auf Typhus, Ruhr, Cholera u. a.) lehrten, daß mit einer nennenswerten Verbreitung von Ruhrdauerausscheidern nicht zu rechnen war (ich fand keinen Fall). Bis zum Juli herrschte Ruhe, dann begannen die ersten ruhrartigen Erkrankungen. Mit dem Nachweis von Ruhrbacillen, der bald gelang, war epidemiologisch noch nicht viel gewonnen. Es erhob sich die Frage: woher kommen die Ruhrbacillen? Von den Dauerausscheidern des Vorjahres? — Wir haben, wie oben erwähnt, keinen Anlaß, mit viel Dauerausscheidern zu rechnen, wenngleich ihr gelegentliches Vorkommen nicht geleugnet werden soll. Aber die hätten doch im ersten Halbjahr 1916 schon reichlich Gelegenheit gehabt, Ansteckungen zu setzen. Nichts dergleichen wurde beobachtet. So bieten sie denn auch keine Handhabe für die Erklärung des späten und dann so explosiven Auftretens der Krankheit, selbst wenn man annehmen wollte, daß klimatische Faktoren erst die Bedingungen der Ansteckungsfähigkeit schaffen[2]. Gerade die pandemische Ausbreitung der Seuche spricht gegen eine wesentliche ursächliche Bedeutung vereinzelter Bacillenwirte.

So drängt sich mehr und mehr der Gedanke ein: Weniger Reste früherer Epidemien sind es, die, durch klimatische und andere Faktoren gefördert, sich zur neuen Seuche ausbreiten, sondern eben diese wenig bekannten Faktoren führen zu einem Neuentstehen infektiösen Materials. Ob aus Bakterienbrutstätten draußen, ob aus der Darmflora des normalen Menschen, bleibe unerörtert. Für diese Hypothese, die keine sichere Begründung in unserem bisherigen Wissen findet, galt es, Stützen zu suchen.

Die Möglichkeit, schon die ersten Ruhrerkrankungen untersuchen zu können, bot hierzu willkommene Gelegenheit. Entwickelt sich der Ruhrerreger tatsächlich neu, so mußten unter den frühesten Erkrankungen am ehesten Bakterienarten zu finden sein, die dem voll ausgebildeten Krankheitskeim noch nicht glichen; also unentwickelte, Uebergangsformen, Stufen auf dem Wege zu dem „echten" Ruhrbacillus. Auf diese wurde gefahndet. Die Stuhluntersuchungen wurden in der üblichen, schon früher geschilderten Weise vorgenommen; alles, was irgendwie verdächtig erschien, wurde rein gezüchtet und auf seine Verwandtschaft mit Ruhrbacillen geprüft. Die ersten 34 so gezüchteten Kulturen sollen im folgenden beschrieben werden.

---

[1] Vgl. Münch. med. Wochenschr. 1915. p. 1768, u. 1916. S. 68.

[2] Bei der Ruhr in Irrenanstalten trifft diese Annahme übrigens nicht zu.

I. Verhalten der frisch gezüchteten Stämme.

Tabelle I gibt die wichtigsten Eigenschaften der Kulturen an. In der zweiten Kolumne ist als ein Kennzeichen der Schwere des Krankheitsbildes auch die Dauer der Blutausscheidung angegeben, soweit ich sie erfahren konnte. Die Prüfung mit Spezialnährböden beschränkte sich auf das Verhalten in Lackmusmolke, Mannit- und Maltoselösung (nach Barsiekow-Hetsch), auf das Wachstum in Milchzucker- und Traubenzuckeragar (hohe Schicht), Flächenwachstum auf Endo-Agar; Kontrolle der Gram-Färbbarkeit und Beweglichkeit. Nur abweichendes Verhalten vom Normalen ist in Spalte 5 besonders aufgeführt. Die Serumprüfung wurde mit verschiedenen Seren derselben Art vorgenommen, die Wertigkeitsbezeichnung geschieht, entsprechend einem Vorschlage von Lentz, in Bruchform: der Zähler gibt die Höhe der letzten wirksamen Verdünnung, der Nenner den Serumtiter an.

Die Stämme 20—25 und 34 verdanke ich der Freundlichkeit des Feldunterarztes Neuber, der sie gleichzeitig in einem anderen Laboratorium des beratenden Hygienikers gezüchtet und mir zur Verfügung gestellt hat[1]).

Es gilt nun, die gezüchteten Stämme in die bekannten Gruppen der Ruhrerreger (Lentz) einzureihen. Keinerlei Schwierigkeiten machen 14 von den 34 Kulturen: No. 2, 13, 14, 29, 31 sind typische Vertreter der Gruppe S.-K., die Nummern 5, 7, 10, 18, 22, 24, 27, 30, 32 echte F.-Bacillen.

Stamm 17 ist agglutinatorisch ein S.-K.-Bacillus; kulturell weicht er insofern ab, als er Lackmus-Maltoselösung zu starker Rötung bringt. Da nach Winter[2]) eine gewisse Maltosezersetzung von jedem S.-K. ausgeübt wird, handelt es sich hier vielleicht nur um eine abnorm stark ausgebildete Eigenschaft.

Nach Lentz[3]) ist die Agglutinabilität der Ruhrbacillen sehr verschieden stark. „Selbst innerhalb einer Epidemie findet man neben leicht agglutinablen schwer agglutinable Stämme." Mit Rücksicht auf diese Erfahrungen lassen sich noch die folgenden Kulturen als „schwer agglutinable" einreihen, und zwar als schwer agglutinable S.-K.: 1, 4, 26; als schwer agglutinable F.: 5, 16, 20, obwohl 5 und 16 nur bis zu $^1/_{10}$ der Titergrenze beeinflußt werden.

11, der kulturell F. ist, wird sowohl von F.-Serum wie von S.-K.-Serum bis zu $^1/_5$ der Titergrenze, also relativ gleich hoch, agglutiniert, so daß seine Einreihung in die F.-Gruppe nicht frei von Will-

---

[1] Im folgenden bedeutet S.-K. Shiga-Kruse, F. Flexner.

[2] Zitiert nach Lentz. Auch Kruse hat schon auf das gelegentliche Vorkommen dieser Eigenschaft hingewiesen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 57.)

[3] Lentz, Dysenterie. (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. 2. Aufl. Bd. 3.)

Tabelle I.

No.	Schwere des Falles	Krankheitstag	Stuhl	Spezialnährböden	Serumprüfung		
					S.-K.	F.	Y
1	tödlich verlaufen	4. Tag	blutig-schleim.	typisch für S.-K.	$^{400}/_{1000}$	$^{500}/_{5000}$	—
2	schwer, 10 Tage Blut, später Rezidiv	7. „	dgl.	dgl.	$^{1000}/_{1000}$	—	—
3	schwer, 5 Tage Blut	5. „	„	typisch für Y	—	$^{4000}/_{4000}$	$^{100}/_{10000}$
4	„ 10 Tage Blut	10. „	„	„ „ S.-K.	$^{400}/_{1000}$	—	—
5	leicht, 4 Tage Blut	5. „	breiig	„ „ Flexner	—	$^{500}/_{5000}$	—
6	„ 5 „ „	12. „	„	„ „ Y	$^{100}/_{1000}$	$^{1000}/_{5000}$	$^{100}/_{10000}$
7	„ 2 „ „	9. „	reiner Schleim	„ „ Flexner	$^{200}/_{1000}$	$^{5000}/_{5000}$	$^{100}/_{10000}$
8	„ kein Blut	6. „	breiig	Gasbildung in Traubenzucker; Umschlag in Lackmusmolke am 3. Tage	—	—	—
9	„ 2 Tage Blut	9. „	fest	Gasbildung in Traubenzucker u. Milchzucker; die anderen Lösung. unveränd.	—	—	—
10	mittelschwer, 8 Tage Blut	8. „	Schleim u. Blut	typisch für Flexner	—	$^{4000}/_{4000}$	$^{100}/_{10000}$
11	leicht, kein Blut	5. „	breiig	dgl.	$^{200}/_{1000}$	$^{1000}/_{5000}$	—
12	?	?	blutig	wie 9	—	—	—
13	?	?	„	typisch für S.-K.	$^{3000}/_{3000}$	—	—
14	?	?	breiig mit Blut	dgl.	$^{800}/_{1000}$	—	—
15	leicht, 3 Tage Blut	8. Tag	breiig	typisch für Flexner	—	$^{100}/_{5000}$	$^{500}/_{10000}$
16	mittelschwer, 6 Tage Blut	13. „	flüssig	„ „ „	—	$^{500}/_{5000}$	$^{100}/_{10000}$
17	dgl., 5 Tage Blut	5. „	leicht blutig	wie Shiga, nur Maltoselösung gerötet	$^{800}/_{1000}$	—	—
18	leicht, 2 Tage Blut	18. „	breiig	typisch für Flexner	$^{100}/_{1000}$	$^{4000}/_{4000}$	$^{500}/_{10000}$
19	schwer, 11 Tage Blut	2. „	blutig-schleim.	„ „ S.-K.	—	—	—
20	mittelschw., 12 Tage Blut	11. „	dgl.	„ „ Flexner	$^{100}/_{1000}$	$^{2000}/_{4000}$	$^{500}/_{10000}$
21	leicht	?	„	„ „ Y	—	—	—
22	„ kein Blut	11. Tag	breiig	„ „ Flexner	$^{200}/_{1000}$	$^{4000}/_{4000}$	$^{1000}/_{10000}$
23	„ „ „	17. „	„	„ „ Y	$^{400}/_{1000}$	$^{500}/_{4000}$	—
24	„ 3 Tage Blut	12. „	„	„ „ Flexner	$^{100}/_{1000}$	$^{4000}/_{4000}$	$^{100}/_{10000}$
25	„ kein Blut	18. „	„	„ „ Flexner	$^{100}/_{1000}$	$^{4000}/_{4000}$	$^{500}/_{10000}$
26	mittelschwer, 9 Tage Blut	5. „	schleim.-blutig	„ „ S.-K.	$^{400}/_{1000}$	—	—
27	schwer, 7 Tage Blut	6. „	dgl.	„ „ Flexner	—	$^{4000}/_{4000}$	$^{500}/_{10000}$
28	mittelschwer, 7 Tage Blut	5. „	blutig-flüssig	„ „ S.-K.	—	—	—
29	?	?	schleim.-blutig	„ „ S.-K.	$^{1000}/_{1000}$	$^{100}/_{4000}$	—
30	mittelschwer, 3 Tage Blut	3. Tag	dgl.	„ „ Flexner	$^{200}/_{1000}$	$^{4000}/_{4000}$	$^{100}/_{10000}$
31	dgl. 8 Tage Blut	6. „	„	„ „ S.-K.	$^{1000}/_{1000}$	—	—
32	leicht, 6 Tage Blut	15. „	breiig	„ „ Flexner	$^{400}/_{1000}$	$^{4000}/_{4000}$	$^{1000}/_{10000}$
33	„ 3 „ „	21. „	„	„ „ Flexner	—	—	—
34	?	?	„	„ „ Flexner	—	—	—

kür sein würde. Stamm 15, kulturell F., wird nur zu $^1/_{50}$ Titerhöhe beeinflußt; seine Einordnung in die F.-Gruppe stieß auf Bedenken.

Kulturell als Y erwiesen sich 4 Kulturen: 3, 6, 21, 23. Nennenswert durch Y-Serum (verschiedene Sera) beeinflußt wird keiner von diesen Stämmen. Dagegen erweist sich 3 agglutinatorisch als typischer F., 6 als schwer agglutinabler F., 21 als inagglutinabel.

F.-Stämme, die die Fähigkeit, Maltose zu vergären, verloren haben, sind in der Literatur bekannt. Es handelt sich jedoch immer um alte, längere Zeit auf künstlichen Nährböden fortgezüchtete Kulturen; an der

Zuverlässigkeit der Zuckernährböden „für die Differenzierung frisch aus menschlichen Faeces isolierter Ruhrbacillen zu zweifeln“ [1]), liegt nach Lentz kein Grund vor. Die oben erwähnten Befunde lassen einen gewissen Zweifel doch zu.

Stamm 23 wird schwach von F.-Serum, etwas stärker (relativ) von S.-K.-Serum beeinflußt. Um den Verdacht einer Mischkultur von S.-K. und F. zu zerstreuen, haben wir 23 durch Plattenaussaat in 8 Tochterkulturen gespalten. Alle Tochterkulturen verhielten sich kulturell und agglutinatorisch wie der Mutterstamm. Die Identifizierung dieses Stammes ist daher ohne weitere Prüfung nicht möglich.

Es bleiben noch die Kulturen 8, 9, 12, 19, 28, 33, 34. Von diesen könnte man, vorbehaltlich der Bestätigung durch andere Untersuchungsmethoden, die Stämme 19 und 28 als inagglutinable S.-K., 33 und 34 als inagglutinable F.-Bacillen ansprechen. 8, 9 und 12 weichen kulturell erheblich von der Ruhrgruppe ab; sie sind gezüchtet worden, weil sie sie sich auf den Original-Stuhlplatten in großen Mengen und mit verdächtigem Wachstum vorfanden.

Ehe nun an eine Weiterverarbeitung der zweifelhaften Kulturen gegangen wurde, mußte festgestellt werden, ob sie tatsächlich alle als Krankheitserreger zu betrachten waren. Deshalb wurde, soweit irgend möglich, das Serum des betreffenden Kranken auf seine Agglutinationskraft geprüft.

II. Agglutination mit Krankenserum.

Unsere Erfahrungen mit der Agglutination des Serums von Ruhrkranken gehen auf Grund der früher mitgeteilten Beobachtungen dahin, daß eine Agglutination von S.-K.-Bacillen von einer Serumverdünnung $^1/_{50}$ aufwärts beweisend ist. Ebenso wie Hohn [2]), betrachten wir eine gleichzeitige Agglutination von F.- und Y-Bacillen als Mitagglutination und unerheblich, selbst wenn sie noch in höheren Verdünnungen ($^1/_{100}$ bis $^1/_{200}$) ausgeprägt ist. Für F.- bzw. Y-Ruhr spricht sie nur, wenn sie allein vorhanden und mindestens $^1/_{100}$ hoch ist.

Die Sera wurden mit den 3 Ruhrtypen gleichzeitig makroskopisch angesetzt, blieben 2 Stunden bei 37°, 18—24 Stunden bei Zimmertemperatur. Kontrolle mit Lupe. Zur Prüfung wurden benutzt als S.-K.: Stamm 2, als F.: Stamm 10, als Y eine vom Berliner Medizinalamt überlassene Kultur. In allen Fällen, in denen erheblich abweichende Kulturen gezüchtet waren, wurde außerdem noch dieser „Eigenstamm“ herangezogen. (Zur Kontrolle auch bei einigen typischen Fällen.)

S.-K.-Agglutination wurde — mit 2 Ausnahmen (11, 23, s. u.) — nur bei Fällen echter Shiga-Ruhr beobachtet, auch bei allen den Patienten, aus deren Stuhl schwer- bzw. inagglutinable oder atypische Stämme gezüchtet worden waren. Die Agglutination mit dem abweichenden Eigenstamm war stets positiv, bald schwächer, bald stärker als die mit dem Normalstamm. Somit sind alle abweichenden S.-K.-Stämme, der Maltose vergärende sowohl wie die inagglutinablen, als echte Ruhrbacillen und Krankheitserreger zu betrachten.

Etwas anders fiel die F.-Agglutination aus: häufig war sie als Mitagglutination bei Shiga-Ruhr vorhanden; in 2 Fällen typischer Flex-

---

[1] l. c. S. 952.

[2] Zitiert nach Lentz.

Tabelle II.

No.	Krankheitstag	Ausfall			Eigenstamm	Charakter des Stammes
		S.-K.	F.	Y		
2	22	1/100	1/200	1/100	1/100	S.-K.
3	18	—	1/200	1/200	1/200	atyp. F.
4	23	1/100	—	—	.	schwer aggl. S.-K.
6	23	—	—	1/100	1/100	atyp. F.
7	21	—	1/400	1/400	.	F.
8	19	—	1/50	1/100	—	Gasbildner
9	17	—	—	—	1/100	dgl.
10	19	—	1/200	1/200	.	F.
11	17	—	—	—	—	atyp. Ruhrstamm
	35	1/50	—	—	1/50	
15	21	—	1/50	1/50	1/50	inaggl. F.
	30	—	1/50	1/50	1/100	
16	22	—	—	1/100	1/200	schwer aggl. F.
17	18	1/100	1/50	—	1/400	atyp. S.-K.
18	25	—	1/100	1/50	.	F.
19	20	1/400	1/50	—	1/200	inaggl. S.-K.
22	27	—	1/200	1/400	1/200	F.
23	28	1/50	1/100	1/25	1/200	atyp. Ruhrstamm
24	27	—	1/200	1/400	1/200	F.
25	34	—	1/100	1/100	1/200	F.
26	21	1/400	1/100	1/100	1/400	schwer aggl. S.-K.
27	22	—	1/200	1/200	.	F.
28	20	1/200	—	—	1/100	inaggl. S.-K.
30	23	—	—	—	.	F.
31	18	1/400	1/200	1/100	.	S.-K.
32	23	—	—	—	.	F.
33	28	—	1/50	—	—	inaggl. F.
	36	—	1/50	1/100	1/200	

ner-Ruhr (No. 30 u. 32) versagte sie vollkommen, trotz 4. Krankheitswoche, also in einer Zeit, in der im allgemeinen die Agglutinationskraft gut ausgeprägt ist. Daß derartige Versager vorkommen, ist bekannt, entspricht auch unseren früheren Erfahrungen. Fall 15 zeigt *steigenden* Serumtiter nur für den Eigenstamm, in etwa gleicher Weise auch Fall 33. Die übrigen Krankensera zeigen gute Agglutination für F., die Beeinflussung von Y-Bacillen geht ihr in großen Zügen parallel. Abweichungen von diesem Parallelismus, die aus der Tabelle hervorgehen, seien nur angedeutet.

Es ergibt sich somit, daß sämtliche atypischen F.-Stämme als Erreger der betreffenden Krankheit in Betracht kommen; inwieweit einige von ihnen mit dem echten F.-Bacillus identisch sind, bedarf weiterer Untersuchung (No. 6, 15, 16, 33).

Stamm 23 entspricht den „*Doppelstämmen*“, wie wir sie aus der Enteritisgruppe kennen[1]): Agglutination durch beide Serumarten (siehe Tabelle I), dazu kulturell abweichendes Verhalten. Dem entspricht auch die Serumreaktion des Kranken (Tabelle II): Doppelagglutination sowohl für S.-K. wie für F., *am stärksten ausgeprägt aber ist die Agglutination des Eigenstammes. Der Beweis für die Zusammengehörigkeit von Stamm uud Krankheit ist somit geliefert; die Natur des Ruhrstammes aber bleibt im Unklaren.* Ganz ähnlich verhält sich der *Stamm 11*, der kulturell ein F. ist.

---

1) Sobernheim u. Seligmann, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 6.

Von den drei gasbildenden Kulturen fällt die eine (8) aus; hier läßt sich kein Beweis für ihre ätiologische Bedeutung aus der Serumreaktion folgern, sie scheidet daher aus unseren weiteren Betrachtungen aus. Ebenso 12, da Krankenserum leider nicht zur Verfügung stand. Dagegen zeigt das Serum des Patienten 9 typische Agglutination nur für den Eigenstamm. Eine Reihe Kontrolluntersuchungen mit anderen Krankenseren bestätigte, daß es sich tatsächlich um eine spezifische Reaktion handelt. Wir müssen daher diesen, den Coli-Bacillen nahestehenden, unbeweglichen Bacillus als einen Ruhrerreger betrachten[1]).

III. Antigenes Verhalten.

Die Fähigkeit einer Bakterienart, im Tierkörper Gegenstoffe zu erzeugen, ist ein wichtiges Hilfsmittel für ihre Identifizierung. Von diesem Mittel haben wir bei 7 Kulturen Gebrauch gemacht, hauptsächlich solchen, die mit den bisher benutzten Untersuchungsmethoden nicht endgültig klassifiziert werden konnten.

Als Serumspender dienten Kaninchen. „Die aktive Immunisierung gegen den S.-K.-Bacillus gehört wegen der diesem Typ eigentümlichen Giftwirkung auch heute noch zu den schwierigsten Aufgaben des Bakteriologen“ [Lentz[2])]. Im Gegensatz zu dieser, auch von uns in Friedenszeiten gemachten Erfahrung gelang die Serumgewinnung im allgemeinen überraschend leicht, mit wenigen Injektionen und ohne jeden Tierverlust. Vielleicht verhalten sich frisch gezüchtete Kulturen in dieser Hinsicht günstiger.

1) Stamm 19. Vorbehandlung: $^1/_{40}$ Oese Kultur lebend intravenös, nach 6 Tagen $^1/_{10}$ desgl.; nach weiteren 6 Tagen Blutentnahme.

Tabelle III. Serum 19.

	100	500	1000	2000	4000	8000	C.
19	+++	+++	±++	++	++	+	—
2	+++	+++	+++	++	+	—	—
29	+++	+++	+++	++	++	—	—
17	+++	+++	+++	++	++	+	—
26	+++	+++	+++	+++	++	++	—

Stamm 19, ein als inagglutinabel gezüchteter S.-K.-Stamm, liefert somit ein Serum, das alle S.-K.-Stämme hoch agglutiniert; am höchsten anscheinend die sonst schwer agglutinablen (26) und abweichenden (17) Stämme.

2) Stamm 17. Vorbehandlung genau wie bei 19.

Tabelle IV. Serum 17.

	100	500	1000	2000	4000	8000	C.
17	+++	+++	+++	++	++	+	—
2	+++	+++	+++	++	++	+	—
19	+++	+++	+++	++	+	+	—
26	+++	+++	+++	++	+	+	—
10	+	—	—	—	—	—	—
33	—	—	—	—	—	—	—
15	±	—	—	—	—	—	—
23	++	±	—	—	—	—	—

---

[1] Auch Manteufel (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 79) hat in Ostafrika gasbildende Stämme gefunden, die er als Ruhrerreger anspricht. Allerdings liegt in seinen Fällen die Möglichkeit einer Paragglutination vor. Vgl. auch die Mitteilung von Falta und Kohn, Wien. klin. Wochenschr. 1915.

[2] l. c. S. 958.

Stamm 17, ein kulturell abweichender S.-K.-Stamm, liefert ein Serum, das alle S.-K.-Stämme hoch agglutiniert, agglutinablen (10) und inagglutinablen (15, 33) F. gar nicht beeinflußt und auch Doppelstämme (23) nur unerheblich mitagglutiniert.

3) Stamm 5. Vorbehandlung wie bei den vorigen.

Tabelle V. Serum 5.

	100	1000	5000	10000	20000	C.
5	+++	+++	+++	++	+	—
10	+++	+++	±	—	—	—
3	+++	++	—	—	—	—
Flexner-Berlin	+++	++	±	—	—	—
11	+++	+++	+	—	—	—
6	+++	+++	++	+	+	—
15	+	+	—	—	—	—
16	+++	+++	++	+	+	—
23	+++	++	+	—	—	—
21	—	—	—	—	—	—
33	—	—	—	—	—	—

Stamm 5, ein schwer agglutinabler F., liefert ein sehr hochwertiges Serum, das außer 5 selbst nur noch 6 und 16 ebenso hoch beeinflußt, zwei gleichfalls schwer agglutinable Stämme, von denen der eine (6) noch dazu kulturell abweichend ist.

Deutlich, aber nennenswert niedriger werden echte F. beeinflußt, fast ebenso die Doppelstämme 11 und 23. Inagglutinable F. fallen auch hier aus (21, 33).

4) Stamm 15. Vorbehandlung wie bei den vorigen.

Tabelle VI. Serum 15.

	100	500	1000	2000	C.
15	+++	+++	+++	++	—
10	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—
Flexner-Berlin	—	—	—	—	—
Y-Berlin	—	—	—	—	—
23	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—
11	—	—	—	—	—
21	—	—	—	—	—
23	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—
19	—	—	—	—	—

Stamm 15, ein fast inagglutinabler F., liefert ein Serum, das nur den eigenen Stamm hoch agglutiniert, sonst aber keinen Ruhr- oder ruhrähnlichen Stamm beeinflußt.

5) Stamm 23. Vorbehandlung wie bei den vorigen.

Tabelle VII. Serum 23.

	100	1000	2000	4000	8000	16000	C.
23	+++	+++	+++	++	+	+	—
10	++	+	±	—	—	—	—
3	+	—	—	—	—	—	—
Flexner-Berlin	+	—	—	—	—	—	—
Y-Berlin	+	—	—	—	—	—	—
5	+++	+++	+++	+	—	—	—
6	++	±	—	—	—	—	—
11	+++	+++	++	++	+	+	—
15	++	+	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—
26	—	—	—	—	—	—	—

Stamm 23, ein Doppelstamm (kulturell Y), liefert ein hochwertiges Serum, das außer den Eigenstamm nur noch Stamm 11 in gleicher Höhe beeinflußt. Dieser Stamm 11 ist gleichfalls ein Doppelstamm. Nennenswert agglutiniert wird auch die Kultur 5, ein schwer agglutinabler F. (Ein Blick auf Tabelle V lehrt, daß dessen Serum umgekehrt auch Doppelstämme beeinflußt.) Normale F.-Bacillen werden nur in ganz geringem Maße, S.-K.-Bacillen überhaupt nicht beeinflußt.

6) Stamm 21. Vorbehandlung: $^1/_{40}$, $^1/_{10}$, $^1/_2$ und $^1/_1$ Oese lebend intravenös.

Das Serum zeigte nach 24-stündiger Einwirkung bei 37° $^1/_{100}$ +++ mit dem Eigenstamm. Keine unserer anderen Kulturen wurde beeinflußt, auch nicht 33.

7) Stamm 33. Vorbehandlung: $^1/_{40}$, $^1/_{10}$, $^1/_2$ und $^1/_1$ Oese lebend intravenös.

Das Serum zeigt nach 24stündiger Einwirkung bei 37° $^1/_{500}$ ± mit dem Eigenstamm. Keine unserer anderen Kulturen wurde beeinflußt, auch nicht 21.

Die Bedeutung von 33 als Krankheitserreger ist durch die Krankenserumagglutination bewiesen (s. Tab. II). Für 21 steht dieser Beweis aus, da Krankenserum nicht verfügbar war.

Das Resultat der Immunisierungversuche stellt sich nach den mitgeteilten Prüfungen folgendermaßen dar: sämtliche S.-K.-Bacillen, die schwer agglutinablen, die inagglutinablen und der kulturell abweichende, sind tatsächlich echte S.-K.-Kulturen.

Von den schwer agglutinablen F.-Stämmen zeigt No. 5 antigene Eigenschaften, die auf seine nahe Verwandtschaft zu echten F.-Kulturen hinweisen. Immerhin scheint er mit den anderen schwer agglutinablen F.-Stämmen eine Sondergruppe zu bilden.

Wiederum eine Gruppe für sich, dem typischen F.-Bacillus eine Stufe ferner, stellt Stamm 15 dar. Fast inagglutinabel für F.-Serum, schwach beeinflußt vom Serum der eben erwähnten Gruppe, bildet er selbst ein Serum ohne jede Verwandtschaftsreaktion.

Wieder eine Stufe tiefer stehen die inagglutinablen F.-Kulturen 21 und 23. Ihnen fehlen, ebenso wie die agglutinablen, auch die antigenen Eigenschaften fast völlig. Mit anderen oder untereinander scheinen sie nicht verwandt zu sein.

Die Doppelstämme 11 und 15 sind miteinander eng verwandt. Ihr antigenes Verhalten ist nicht doppelseitig wie die Agglutinabilität, sondern nur nach einer Richtung hin entwickelt[1]). Diese Richtung weist zur F.-Gruppe hin; das deutet die wechselseitige Beeinflussung von Stamm und Serum 5 an.

IV. Weiteres Verhalten der schwer agglutinablen Stämme.

Es erübrigt noch, festzustellen, wie sich die schwer agglutinablen Stämme bei weiterer Fortzüchtung verhalten:

1) S.-K.-Stämme.

Stamm 1: ursprünglich $^{400}/_{1000}$; nach 6 Wochen kümmerlich, aber deutlich $^{2000}/_{2000}$
„ 4: „ $^{400}/_{1000}$; „ 6 „ $^{1000}/_{2000}$
„ 26: „ $^{400}/_{1000}$; „ 7 „ $^{400}/_{1000}$
„ 19: „ — ; „ 2 „ $^{400}/_{1000}$; nach 4 Wochen $^{2000}/_{2000}$
„ 28: „ — ; „ 3 „ $^{1000}/_{1000}$.

Die Mehrzahl der Stämme hat also an Agglutinabilität erheblich zugenommen, namentlich die zuerst völlig inagglutinablen.

---

[1]) Auch das Verhalten kehrt bei den Doppelstämmen der Enteritisgruppe wieder Sobernheim u. Seligmann, l. c.).

2) F.-Stämme.

Stamm 5: ursprünglich $^{500}/_{5000}$; nach 6 Wochen $^{2000}/_{4000}$
" 16: " $^{500}/_{5000}$; " 4 " $^{2000}/_{5000}$
" 20: " $^{2000}/_{4000}$; " 4 " $^{2000}/_{4000}$
" 15: " $^{100}/_{5000}$; " 4 " $^{2000}/_{4000}$; nach 6 Wochen $^{10000}/_{10000}$
" 33: " —; " 4 " —
" 34: " —; " 4 " —

An Agglutinabilität zugenommen haben 3 von den 6 Stämmen, bis zur vollen Höhe merkwürdigerweise nur der, der antigen eine Sonderstellung einnimmt (15).

3) Doppelstämme.

Stamm 11: { ursprünglich S.-K. $^{200}/_{1000}$; nach 6 Wochen $^{2000}/_{8000}$ (kümmerlich)
" F. $^{1000}/_{5000}$; " 6 " $^{1000}/_{5000}$
Stamm 23: { " S.-K. $^{400}/_{1000}$; " 4 " $^{1000}/_{2000}$
" F. $^{500}/_{4000}$; " 4 " $^{2000}/_{10000}$

Wesentliche Veränderungen sind nicht eingetreten; höchstens die S.-K.-Agglutination ist etwas deutlicher geworden.

Ueberblicken wir das Ergebnis dieser etwas mühseligen Untersuchungen im Zusammenhang, so erkennen wir, daß unsere Voraussetzungen eine weitgehende Bestätigung gefunden haben. Wir fanden eine ganze Anzahl wirklicher Ruhrerreger, die von den bekannten Typen mehr oder minder abweichen, die aber unter sich zum Teil Verwandtschaftsreaktionen zeigen. Gruppieren wir die untersuchten Kulturen, so ergibt sich folgende Reihe:

1) eine gasbildende, dem Coli-Bacillus nahestehende Art (9),
2) inagglutinable Bacillen der Flexner-Gruppe ohne nennenswerte antigene Eigenschaften (33, 34),
3) schwer agglutinable Flexner-Bacillen, die streng spezifische Sonderantigene besitzen (15),
4) schwer agglutinable Flexner-Stämme, deren antigene Eigenschaften dem normalen Flexner-Typus schon sehr nahestehen (5, 6, 16),
5) typische Flexner-Bacillen,
6) Doppelstämme, die sowohl von Flexner- wie von Shiga-Kruse-Serum beeinflußt werden und selbst Sondersera liefern, die mit der Gruppe 4 Verwandtschaft zeigen (11, 23),
7) schwer agglutinable Shiga-Kruse-Stämme (1, 4, 19, 26, 28),
8) typische Shiga-Kruse-Bacillen.

Es macht den Eindruck, als ob wir in dieser Reihe eine Art Entwickelungsweg vor uns haben, in dem manche Zwischenstationen wohl noch fehlen mögen, so zwischen Gruppe 1 und 2 und zwischen Gruppe 6 und 7.

Nehmen wir hinzu, daß auf der Höhe der Krankheit in beiden Jahren fast ausschließlich typische Ruhrbacillen gefunden wurden, erst gegen das Ende zu vereinzelt wieder abweichende Formen, so scheint die Annahme von dem Neuentstehen des typischen infektiösen Materials im Beginn der Epidemie durch unsere Untersuchungen eine Bestätigung erfahren zu haben.

Nachdruck verboten.

Die Vererbung der Immunität gegen Lyssa.

Dritte Mitteilung.

[Aus dem Institute für allgem. Pathologie und Therapie der Universität Kolozsvár (Direktor: Prof. v. Löte).]

Von Privatdozenten Dr. **Daniel Konrádi**, Adjunkten am Institut.

In meiner ersten[1]) und zweiten[2]) Mitteilung konnte ich in sieben Untersuchungsserien nachweisen, daß die Lyssaimmunität vererbbar ist, daß bei dieser Vererbung dem Vater kaum eine Rolle zukommt; nur die Mutter ist imstande, die Immunität zu übertragen, und zwar nicht nur dann, wenn ihre Immunisierung während der Schwangerschaft vollführt wurde, sondern auch, wenn sie vor der Konzeption immunisiert worden war. Ferner wies ich nach, daß in dieser Vererbung die Nachkommen individuelle Verschiedenheiten zeigen (manche vererben dieselbe, andere nicht), daß diese Vererbung nur bis zur 1. Generation geschieht (in den Enkeln ist sie ganz verschwunden) und daß diese Immunität viel länger dauert, als dies bis jetzt nach den Untersuchungen von Ehrlich und seinen Nachfolgern angenommen wurde.

Die damaligen Erfahrungen zeigten, daß die Lyssaimmunität bestimmt 10 Monate lang dauert und vielleicht noch länger, was durch weitere Untersuchungen zu beweisen wäre. Ich teilte schon damals mit, daß solche Untersuchungen im Gange sind. In dieser dritten Mitteilung, welche sich an die früheren 7 Serien als VIII. und IX. Untersuchungsserie angliedert, will ich über diese berichten.

VIII. Untersuchungsserie.

Am 3. Mai 1912 wurde ein Hund von 4,9 kg Körpergewicht in einer anderen Weise immunisiert, als in den ersten 7 Serien. Die damaligen wurden nach der Högyesschen Methode immunisiert; jetzt wurde aber zu diesem Zwecke ein solches Virus benutzt, welches den Froschkörper passierte. Prof. v. Löte konnte nämlich nachweisen[3]), daß das Lyssavirus im Froschkörper abgeschwächt wird. Dieses Froschvirus wurde nun durch den Meerschweinchenkörper in 15 Passagen weitergeleitet, wobei es sich zeigte, daß das Meerschweinchen in der 1. Generation nach 14, in der 2. nach 15, in der 3. nach 15, in der 4. nach 17, in der 5. nach 16, in der 6. nach 19, in der 7. nach 38, in der 8. nach 175, in der 9. nach 23, in der 10. nach 20, in der 11. nach 28, in der 12. nach 21, in der 13. nach 19, in der 14. nach 18 und in in der 15. nach 24 Tagen an Lyssa zugrunde ging. Aus 2 g des Gehirnes dieses letzten Meerschweinchens wurde eine Emulsion bereitet und dem Hunde unter die Haut eingespritzt. Diese Virusmenge wurde von dem Tiere gut vertragen; es zeigte gar keine Krankheitssymptome, hingegen ging das aus dieser Emulsion subdural geimpfte Meerschweinchen nach 52 Tagen unter den typischen Erscheinungen der Lyssa zugrunde.

---

[1]) Ist die erworbene Immunität vererbbar? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. S. 41–48 u. 139–148.)

[2]) Die Vererbung der Immunität gegen Lyssa. (Ebenda. Bd. 52.)

[3]) Ist das Wutvirus auf Frösche übertragbar? (Ebenda. Bd. 42. S. 25.)

Die Hündin warf am 14. Nov. 1912, also 195 Tage nach ihrer Immunisierung, 6 Junge, von denen aber 4 an einem Unfall vor der Zeit zugrunde gingen. Es blieben also 2.

Das 1. Glied wurde am 8. Nov. 1913, also im Alter von beinahe 1 Jahre, als sein Körpergewicht 7,2 kg betrug, mit Straßenwut in die lange Rückenmuskulatur beiderseits der Wirbelsäule infiziert, und zwar mit einer Dose von je 1 ccm. Es blieb am Leben und zeigte während einer Beobachtungsdauer von 1 Jahr gar keine Krankheitserscheinungen, hingegen gingen die zur Kontrolle in gleicher Weise infizierten Tiere: 1 Hund und 1 Meerschweinchen, nach 26, ein subdural inokuliertes Kaninchen nach 20 Tagen an Lyssa ein.

In diesem Falle dauerte also die vererbte Immunität mindestens 1 Jahr lang.

Das 2. Junge wurde am 13. Nov. 1914, also im Alter von zwei Jahren, als sein Körpergewicht 6,9 kg betrug, mit Menschenwutvirus infiziert. Es bekam 1 ccm Gehirnemulsion in die Rückenmuskulatur, erwies sich aber nicht immun, denn am 7. Dez. ging es an typischer Wut ein.

Die Immunität des Muttertieres war von noch kürzerer Dauer, denn es ging nach einer Probeinfektion vom 11. März 1913, also 10 Monate nach seiner Immunisierung, zugrunde.

IX. Untersuchungsserie.

Am 13. Febr. 1914 wurde eine Hündin immunisiert mit einem Virus, welches, aus einer 18. Kaninchenpassage stammend, zuerst ein Huhn, dann ein Meerschweinchen passierte. Das Huhn erlag noch der subduralen Infektion nach 59, das aus diesem weitergeimpfte Meerschweinchen nach 94 Tagen. Die Hündin bekam 2 g Mark subkutan, fühlte sich nach der Inokulation ganz wohl, hingegen gingen die subdural infizierten Tiere, ein Meerschweinchen nach 20, das andere nach 22 Tagen an typischer Wut ein.

Um dieser Hündin eine größere Immunität zu verleihen, wurde sie am 16. April 1914 abermals geimpft, und zwar mit 2 g Mark, welches, aus der oben erwähnten Huhnpassage stammend, 4 Meerschweinchengenerationen passierte. Auch dies wurde ganz gut vertragen, hingegen erlag das mit diesem Virus infizierte Meerschweinchen nach 20 Tagen der Wut. Diese Hündin warf am 30. Juli 1914 3 Junge, von denen aber 1 an einem Unfall vor der Zeit zugrunde ging. Es blieben also auch aus dieser Serie 2 zur weiteren Beobachtung. Diese 2 Jungen wurden am 24. April 1916, also im Alter von 1 Jahr, 8 Monaten und 25 Tagen, gleichzeitig mit Straßenvirus in die Rückenmuskulatur infiziert. Ende Oktober 1916, also nach einem halben Jahr, sind sie noch am Leben und fühlen sich ganz wohl; hingegen gingen die in gleicher Weise infizierten Kontrolltiere, 1 Kaninchen nach 20, 1 Hund nach 39 Tagen, an typischer Wut ein.

Das Muttertier zeigte auch in dieser Serie eine kürzere Immunität, denn es ging nach der Infektion vom 11. Dez. 1914 an Wut ein.

Die angeborene Immunität dieser 2 Jungen dauerte also mindestens 1 Jahr, 8 Monate und 25 Tage, also viel länger, als dies durch Ehrlich und seine Nachfolger als sicher erwiesen angenommen wird.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Dies betonte ich schon in meiner 1. Mitteilung 1907 und in der 2. 1909, und dennoch hält Kolle[1]) in seiner 1911 erschienenen Monographie diese Lehre nur im Sinne Ehrlichs für bestätigt, resp. festgestellt, ja Levaditi[2]) nennt sie im Jahre 1914 sogar das Gesetz von Ehrlich, „loi d'Ehrlich". Ich meinerseits halte diese Lehre auch heute noch nicht für festgestellt, im Gegenteil ist es notwendig, mehrere genau observierte Beobachtungen zu sammeln. Solche Beobachtungen sind im Gange.

Nachdruck verboten.

Die Vererbung der Wut.

Vierte Mitteilung.

[Aus dem Institute für allgem. Pathologie und Therapie der Universität Kolozsvár (Direktor: Prof. v. Löte).]

Von Privatdozenten Dr. **Daniel Konrádi**, Adjunkten am Institut.

In meinen 3 früheren Mitteilungen[3]) konnte ich in 8 Untersuchungsserien nachweisen, daß das Wutvirus von der Mutter auf den Fötus übergeht. Seitdem hatte ich Gelegenheit, neuere Beobachtungen zu machen, über welche in 3 fortgesetzten Untersuchungsserien: IX, X und XI, hier berichtet werden soll.

IX. Untersuchungsserie.

Am 27. Okt. 1914 wird einer 7,7 kg schweren Hündin eine Emulsion aus 24 g Mark aus der 57. Kaninchenpassage unter die Haut gespritzt. Das Virus wurde zur Erreichung einer eventuellen Abschwächung 5 Tage lang in Karbol-Glyzerin (50 Glyzerin + 50 physiol. Kochsalzlösung + 3 Tropfen Karbol) gehalten. Das Experiment zeigte aber, daß das Virus nicht abgeschwächt wurde, da das mit 0,5 ccm dieser Emulsion in die Rückenmuskulatur infizierte Meesschweinchen nach 9, das subdural geimpfte Kaninchen nach 10 Tagen an typischer Wut eingingen. Die Hündin hatte aber diese Virusmenge gut vertragen.

Dieses Tier warf am 4. April 1915, also am 160. Tage nach der Einspritzung, 4 Junge.

Das 1. Tierchen ging am 17. April im Alter von 2 Wochen zugrunde. Es wurden in seinem Marke Negrische Körperchen gefunden.

---

[1]) Die Grundlagen der Lehre von der erworbenen Immunität. (Handb. d. path. Mikroorg. von Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 1. S. 927.)

[2]) L'hérédité de l'état réfractaire acquis. (Festschr. zum 60. Geburtstage von Paul Ehrlich. p. 350.)

[3]) a) Ist die Wut vererbbar? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. S. 60.)
b) Ist die Wut vererbbar? Ist das Blut Lyssakranker infektionsfähig? (Ebenda. Bd. 47. S. 203.)
c) Die Vererbung der Wut. (Ebenda. Bd. 73. S. 287.)

Das 2. Junge erlag am 21. April, also im Alter von 17 Tagen. Auch in diesem waren Negrische Körperchen.

Das 3. Tierchen ging am 4. Mai im Alter von 1 Monat an typischer Wut ein und zeigte viele Negrische Körperchen.

Das 4. Junge erlag am 8. Mai, also im Alter von 34 Tagen, ebenfalls an typischer Wut mit vielen Negrischen Körperchen.

Wegen Meerschweinchenmangel konnten wir in diesen Fällen keine Inokulationen machen und begnügten uns mit dem sonst zur Lyssadiagnose ganz sicheren Nachweis der Negrischen Körperchen.

In diesem Experiment fallen 2 Umstände auf, die einer genaueren Besprechung bedürfen: der 1., daß das Wutvirus so lange Zeit im Blute des Muttertieres zirkuliert hatte, und zwar, wie wir oben sahen, 160 Tage lang. Der 2. Umstand, daß diese Jungen eine ziemlich lange Zeit gelebt haben (14, 17, 30, 34 Tage). Uns waren aber diese Umstände nicht neu, denn in den früheren Mitteilungen hatten wir schon nachgewiesen, daß das Wutvirus noch längere Zeit, auch über 1 Jahr, im Blute des Muttertieres zirkulierte und die Nachkommen noch länger, 91 Tage lang, lebten.

X. Untersuchungsserie.

Am 12. Jan. 1915 bekam eine 7,9 kg schwere Hündin 5 g Meerschweinchenmark subkutan. Das Virus passierte zuerst ein Huhn und später 11 Meerschweinchen.

Dieses Muttertier warf am 15. Jan. 1915 4 Junge.

Das 1. Junge erlag am 18. Jan., also im Alter von 3 Tagen. In seinem Marke waren Negrische Körperchen; es wurde aber dennoch ein Meerschweinchen im Nacken infiziert, welches nach 19 Tagen an typischer Wut zugrunde ging.

Das 2. Tierchen erlag am 30. Jan. im Alter von 15 Tagen. Negrische Körperchen wurden nicht gefunden, weshalb ein Meerschweinchen in die Nackenmuskulatur infiziert wurde, das binnen 14 Tagen an typischer Wut einging, zum Beweis, daß das 2. Junge auch an Wut zugrunde gegangen war.

Das 3. Junge erlag am 31. Jan., also im Alter von 16 Tagen. Im Mark waren Negrische Körperchen, und das geimpfte Meerschweinchen erlag nach 15 Tagen an Wut.

Das 4. Tierchen ging auch am 31. Jan. zugrunde, also ebenfalls im Alter von 16 Tagen. Sowohl der Befund von Negrischen Körperchen, als auch der Meerschweinchenversuch bestätigte die Lyssadiagnose, denn es erlag nach 15 Tagen.

In diesem Falle konnte also in den nach 3 Tagen geworfenen Jungen das Wutvirus nachgewiesen werden, ein Beweis, daß das Wutvirus so früh im Blute des Muttertieres erscheint. Auch Jos. Koch fand schon am 2. Tage nach der Infektion Gefäßveränderungen in der grauen Substanz; ein Beweis vom Virusgehalt des Blutes im Anfangsstadium.

Der Vollständigkeit halber soll hier erwähnt werden, daß das Muttertier sich in diesem Falle keine Immunität zugezogen hatte, denn es erlag nach einer Probeinfektion vom 7. April 1915 innerhalb 12 Tagen an typischer Wut.

---

1) Lyssa. (Handb. d. pathog. Mikroorg. von Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 8. S. 790—896.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

XI. Untersuchungsserie.

Am 31. Jan. 1915 wurde eine Hündin von 3,7 kg Körpergewicht mit 3,5 g Meerschweinchenmark subkutan geimpft. In diesem Falle passierte das Straßenvirus zuerst ein Huhn, dann 12 Meerschweinchen.

Dieses Muttertier abortierte am 21. März 1915, also 49 Tage nach ihrer Immunisierung, ein gut entwickeltes Junges, aus welchem ein Meerschweinchen in die Nackenmuskulatur infiziert wurde. Das geimpfte Meerschweinchen ging nach 15 Tagen an typischer Wut zugrunde. Das Muttertier, welches zur Erreichung einer Immunität noch 2mal, am 5. Mai 1915 und am 15. Jan. 1916, Meerschweinchenmarkemulsion desselben Ursprunges wie oben, subkutan erhielt, lebt auch heute noch (Ende Oktober 1916).

Zusammenfassung.

Aus den während der letzten 12 Jahre in dieser Richtung unternommenen Untersuchungen ergibt sich die definitive Tatsache, **daß das Wutvirus von der Mutter auf den Fötus übergeht.**

Nachdruck verboten

Beschleunigte Schizogonie bei Malaria tertiana und dadurch bedingte Umwandlung des Tertianfiebertypus in einen quotidianen.

[Aus der bakteriologischen Station des Festungs-Haupt-Lazaretts Königsberg i. Pr. (Vorstand Prof. Dr. Kißkalt).]

Von Dr. **W. Brünn.**

Leiter des Jewish-Health-Bureau in Jerusalem (Palästina), z. Zt. am Laboratorium.

Hierzu 1 Tafel und 1 Kurve im Text.

Unter den zahlreichen Malariafällen, die im Laboratorium zur Untersuchung gelangten, fielen mir in bisher 4 Fällen, die durchaus als Tertiana anzusprechen sind, viele Formen auf mit

1) überreichem Chromatingehalt,
2) intensiver Färbung des Chromatins (dunkelrot-violett, im Vergleich zu sonst hellrot bis rot),
3) vorzeitiger Teilung (der Parasit füllt kaum $^1/_4$, $^1/_3$ bis $^1/_2$ des roten Blutkörperchens aus),
4) Pigmentmangel resp. Pigmentabwesenheit in diesen Teilungsformen.

In dem Fall M., der auch noch dadurch großes Interesse bietet, daß, als Folge der Bildung obiger Formen, die Umwandlung des Tertianfiebertypus in einen Quotidiantypus beobachtet wurde, ist es möglich gewesen, die Formen eingehender zu studieren.

Krankengeschichte von M.:

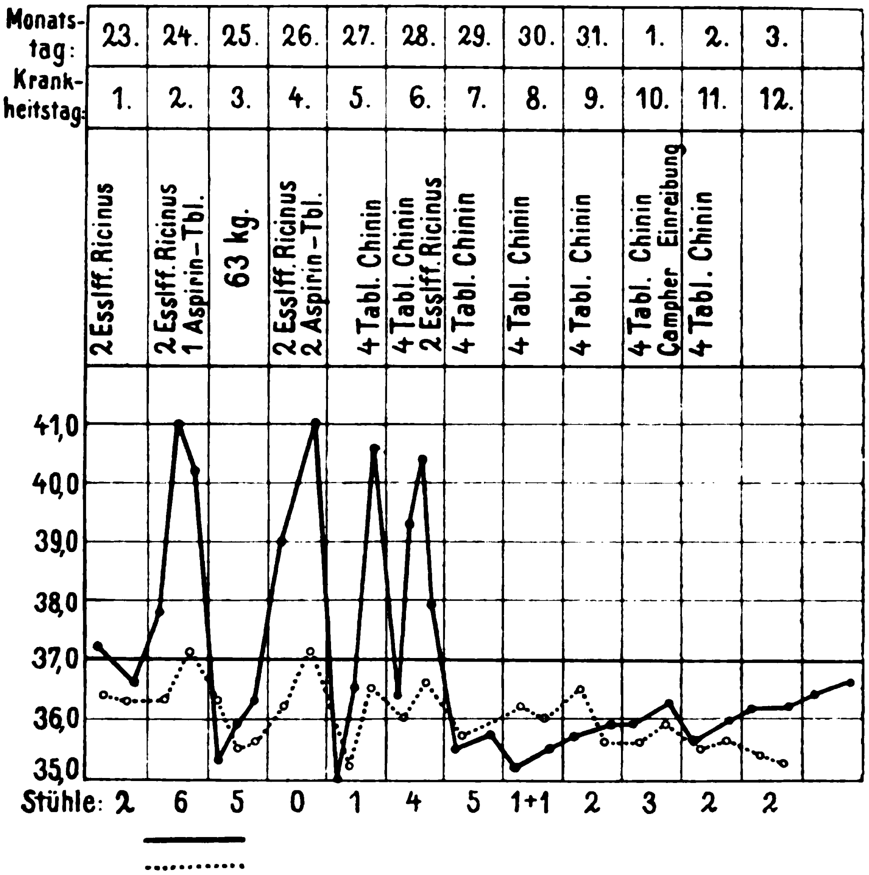
M. ist 21 Jahre alt; bisher immer gesund gewesen. Im September 1915 kam er als Soldat nach Serbien und lag bis Juli 1916 an der griechischen Grenze. Die ganze

Zeit war er gesund; erhielt prophylaktisch nicht Chinin. Am 17. Juli 1916 erhielt er von dort 18 Tage Heimatsurlaub nach Ostpreußen. Am 3. Tage der Heimfahrt, d. i. am 19. Juli, erkrankte er an Magenschmerzen und Durchfall. Am 20. Juli traf er bei seinen Eltern ein; Schmerzen und Mattigkeit wurden immer stärker, so daß er am 23. Juli in das Lazarett wegen Ruhrverdachtes eingeliefert werden mußte. Bei der Aufnahme war die Zunge etwas belegt. Im Stuhlgang kein Blut, kein Schleim. Bauchdecken etwas gespannt, auf Druck nicht empfindlich. Milz nicht palpabel.

26. Juli. Blutuntersuchung (nicht bei uns) auf Malaria positiv.
27. Juli. Von diesem Tage ab erhält er 4mal täglich 0,3 Chinin.
Nachmittags Blutentnahme, von der die abgebildeten Figuren stammen.
Abends bekommt er einen Anfall außer der Reihe.

Blutuntersuchung am 28. konnte leider nicht vorgenommen werden; am 29. fanden sich nur Gameten im Blute. Alles Weitere ist aus der Fieberkurve ersichtlich.

Musketier M. Krankheit: Malaria (Juli—August).



Das Vorkommen vorzeitiger Teilungsformen ist nach Ruge keine Seltenheit; Ziemann bildet in seiner Monographie Tafel IX Fig. 5 sogar eine ab; ich erkläre sie jedoch weiter unten anders als er. In unserm Fällen fanden sich die vorzeitigen Teilungsformen in einer derart reichen Zahl, daß die Erklärung als Abnormität oder Unregelmäßigkeit nicht befriedigen konnte.

Dem überwiegenden Teil der Teilungsformen ist gemeinsam — außer den eingangs erwähnten Eigentümlichkeiten, nämlich reichem und dunkel gefärbtem Chromatin, Pigmentmangel — eine Verminderung des Chromatins. Solches findet man noch im Zusammenhang mit dem Parasiten, wie in Figg. 14, 15, 16, 17, 18, 21, oder bereits abgestoßen im roten Blutkörperchen liegend, wie in Figg. 18, 19, 20, 22, 23, 24.

Bei einer Anzahl von Teilungsformen kann man auch abgestoßenes Pigment antreffen (Figg. 22–24). Diese Formen kann man sich durch die von Schaudinn entdeckte Schizogonie von Gameten entstanden denken. (Ueber die Abweichungen später.) Anfänglich wollte ich alle Teilungsformen durch Gameten-Schizogonie erklären, verleitet durch die Chromatinreduktion und versprengte, frei im Blutkörperchen liegende Plasmaklümpchen. Das Studium der jungen Formen zeigte jedoch, daß Teilungsformen, wie in Figg. 10–15, mit Gameten-Schizogonie nichts zu tun haben können. Die Teilung setzt bereits in den jüngsten Stadien ein (Figg. 6—9). In Fig. 10 füllt der Parasit kaum den fünften Teil des Blutkörperchens aus und weist bereits 2 große Chromatinkerne auf. In Fig. 13 ist der Parasit $^1/_3$ Blutkörperchen groß und enthält dabei massige, den dritten Teil seines Inhalts ausfüllende Chromatinkerne. Eine derart beschleunigte Schizogonie muß eine Ursache haben, und diese möchte ich im Falle M. in der Chininmedikation suchen.

M. war bereits 8 Tage krank. Die ganze Zeit erhielt er kein Chinin; die Parasiten konnten sich ungestört entwickeln. Am 27. morgens erhielt er die erste Chinindosis. Abends erfolgte der Anfall außer der Reihe. Nachmittags fand sich das hier beschriebene Blutbild vor. Anscheinend hat das zunächst in geringen Dosen gegebene Chinin eine beschleunigte Schizogonie hervorgerufen, sowohl bei den Schizonten wie auch bei den Gameten. Im Ausstrich findet sich durchschnittlich in jedem 3. Gesichtsfeld eine Teilungsform; noch zahlreicher waren sie in einem anderen Fall vertreten. Die zerstörende Wirkung des Chinins ist im Präparat auch wahrzunehmen; man sieht eine Anzahl zerrissener Ringe. Schön sind Formen erhalten wie in Figg. 1—3, die anscheinend junge Gameten vorstellen. Unberührt sind auch junge Formen mit massigem Chromatin und spärlichem Plasma, wie 4 und 5, als deren Fortentwickelung man die Formen 6—10 auffassen darf, also Parasiten, die auf irgendeinen Reiz hin — in diesem Falle Chinin — mit einer beschleunigten Schizogonie reagieren können. Denn nicht alle Parasiten scheinen dazu imstande zu sein; hierfür spricht, daß man im Präparat auch wohlerhaltene Schizonten in beginnender Teilung antrifft, mit hellroten Kernen, von normalen Schizonten nicht zu unterscheiden. Außerdem findet man im Ausstrich männliche und weibliche Gameten in verschiedenen Stadien.

Betrachtet man zunächst die Gruppe 21—24, so kann man sich die Parasiten 23 und 24 noch gut als Schizonten vorstellen, als nach Schaudinnscher Darstellung durch Rückbildung aus Gameten entstanden. Man sieht frei im Blutkörperchen den blassen Kernrest, Plasmaklümpchen mit viel Pigment. In Fig. 22 jedoch tritt bereits die „Schizogonie beschleunigende Ursache“ in Erscheinung. Der abgestoßene Chromatinkern ist nicht abgeblaßt; die Teilung muß schneller vor sich gegangen sein. Ebenso wurde nicht alles Pigment konzentriert, um dann allmählich mit dem Chromatinrest zu zerfallen, sondern zusammen mit dem Chromatin wird ein Teil des Pigments abgestoßen, während ein erheblicher Rest im Schizonten verbleibt. Noch deutlicher ist der beschleunigende Reiz bei dem anscheinend noch nicht vollständig erwachsenen Gameten 21 wahrzunehmen. Hier wird einfach der linke Chromatinkern abgespalten und reißt dabei ein Stückchen Plasma mit. Pigment wird gar nicht ausgestoßen. Nun ist selbst bei 23 und 24 ein Reiz zu bemerken; denn der Restkörper scheint schon vor geraumer Zeit abgestoßen zu sein, früher, als es Schaudinn beschreibt. Weil es sich hierbei vermutlich um ausgewachsene Gameten gehandelt hat und der beschleunigende Reiz noch nicht sehr stark gewesen ist, ähneln die Bilder noch mehr der gewöhnlichen Schizogonie von Gameten.

Ganz ungewohnte und auf denselben beschleunigenden Reiz zurückzuführende Erscheinungen sind die Figg. 6—20. Die abnorm frühzeitig einsetzende Teilung ist bereits geschildert. Die Entwicklung von jungen Formen bis zur Merulation muß schnell vor sich gegangen sein; der Anfall ist ungefähr 18 Stunden zu früh aufgetreten. (Ganz genaue Zeitangaben konnten bei nachträglichen Erkundigungen nicht erbracht werden.) Bei der vorzeitigen Teilung werden große Massen von Chromatin abgestoßen. In Fig. 14 ist der untere Kern zur Abstoßung bestimmt, in Fig. 16 der linke oben; in Fig. 18 sieht man rechts freiliegend hellrote Schleifen, links abgesonderte Protoplasmaklümpchen und außerdem noch, im Zusammenhang mit dem Parasiten, unten einen dunkelroten Chromatinkern, auch zur Abstoßung bestimmt. In Fig. 19 hellrote Massen neben und teilweise auch im Parasiten; in Fig. 20 hellrote Chromatinhaufen neben dem Blutkörperchen liegend. Ziemanns Parasit auf Tafel IX No. 5 ist derart zu erklären, daß der untere Teil späterhin abgestoßen wird. Weswegen er diesen Teil als besonderen Parasiten ansieht, ist aus der Abbildung nicht zu ersehen. Immerhin stimmen beide Ansichten darin überein, daß der untere Teil nicht zum Parasiten gehört.

Neben der Chromatinreduktion ist der Pigmentmangel das zweite Charakteristikum dieser Teilungsformen. Wo bleibt das Pigment? Zunächst wird sicherlich weniger Pigment gebildet, da die Entwickelungsdauer der Parasiten bedeutend herabgesetzt ist. Und über den Verbleib der spärlichen Stoffwechselprodukte gibt das Präparat Auskunft. Bereits in Fig. 9 sieht man neben den beiden Kernen ein kleines rotes Korn. In Fig. 15 kann man neben den beiden großen Chromatinklumpen zwei kleine, dunkelrote Körner wahrnehmen. Solche rote Körnchen, die als Kernanlage nicht in Betracht kommen, sieht man auch in Figg. 17, 19, 20, 22. Es liegt nun der Gedanke nahe, daß mit diesen Chromatinkörnern, und weiter überhaupt mit dem abgestoßenen Chromatin, auch die Stoffwechselprodukte der Parasiten eliminiert werden und auf diese Weise das Fehlen des Pigments in den Figg. 12—20 zu erklären wäre.

Ebenso interessant und bedeutsam wie die beschleunigte Schizogonie ist der Fieberanfall außer der Reihe am 27. Juli. Dieser Anfall ist sicherlich durch die geschilderte schnellere Fortpflanzung vieler Parasiten zustande gekommen. Und damit ist einmal eine Ursache für die Entstehung einer Quotidiana aus einer Tertiana beobachtet worden.

Bisher gab es nur die Theorie von den beiden alternierenden Parasitengenerationen, von denen die eine latent bliebe und so den Tertiantypus nicht störe, dann aber aus irgendeinem Grunde sich stärker vermehre, einen Anfall am anfallsfreien Tage auslöse und dadurch eine Quotidiana hervorrufe. Obwohl diese Theorie nicht befriedigt — werden doch in den meisten Fällen die Kranken nicht nur einmal, sondern sicherlich viel häufiger infiziert, ohne daß die Neuerkrankungen öfters von dem typischen Bild der Tertiana resp. Quartana abweichen — möchte ich nicht behaupten, daß die „beschleunigte Schizogonie“ regelmäßig die Ursache abgebe für die Umwandlung einer Tertiana resp. Quartana in eine Quotidiana.

Die beschleunigte Schizogonie — in unserem Falle hauptsächlich der reinen Schizonten und weniger der Gameten-Schizonten — auf irgendeinen Reiz hin ist eine Ursache. Ob es die einzige ist, oder ob es noch andere gibt, dürften weitere Beobachtungen lehren.

Wollte man eine Erklärung für die beschleunigte Schizogonie suchen, so wäre die Vorstellung nicht von der Hand zu weisen, daß zum Schutz gegen das eindringende Chinin, wie zur Erhaltung der Art nun schnell resistentere Formen, Gameten, gebildet werden. In dieser Annahme wird man durch genauere Betrachtung der Merozoïten bestärkt. Man sieht z. B. in den fast fertigen Formen Figg. 23 und 24 bei einem Teil der Merozoïten das Chromatin ganz dunkel oder mit einem dunklen Kern (auch bei 2 Figuren auf Ziemanns Tafel IX angedeutet), die anderen Chromatinkerne homogen und heller rot. Ich möchte annehmen, daß aus den hellkernigen Merozoïten sich Schizonten entwickeln, aus den dunkelkernigen dagegen die benötigten Gameten, und dies um so mehr, als in den jüngeren, reinen Schizontenformen Figg. 19 und 20 sich nur dunkle Kerne vorfinden. In Konsequenz hiervon darf man annehmen, daß das reduzierte Chromatin Chromatin darstellt, das zur Gametenbildung nicht geeignet gewesen, sondern für gewöhnlich zum Aufbau von Schizonten Verwendung gefunden hat. Im Zusammenhang damit sei auf die geringe Zahl der Merozoïten in Figg. 19 und 20 aufmerksam gemacht. Ich habe bei den vorzeitigen Teilungsformen im Präparat nie mehr als 10 Teile feststellen können, meistens weniger.

Ich glaube, daß bei unbehandelten typischen Neuerkrankungen mit „Nochtscher“ Chinindosierung sich die beschleunigte Schizogonie wiederfinden lassen wird; leider waren mir hier solche Fälle nicht zugänglich.

Literatur.

Schaudinn, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 19, 20, 21.
Ziemann, Malaria. (Menses Handb. d. Tropenkrankh. Bd. 3. 1906.)
—, Ueber eigenartige Malariaparasitenformen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76.)
Ruge, Die mikr. Diagnose des anteponierenden Tertianfiebers. (Festschr. f. Robert Koch. 1903.)
—, Malariaparasiten. (Handb. d. path. Mikroorgan. Bd. 7. 1913.)
Blümel u. Metz, Schizogonie von Makrogameten. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12. 1908. S. 248.)
Swellengrebel, Schizogonie der weibl. Gametocyten von Laveran. Malaria. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70.)

Tafelerklärung.

Alle Figuren wurden mit Zeiß 4 mm Apochr. und Kompensationsokular 8 von Frl. Erna Meinekat, Königsberg i. Pr., gezeichnet. Die Präparate sind mit Giemsa gefärbt, die Färbung ist nicht sehr intensiv, wie an der Schüffner-Tüpfelung zu erkennen ist.

Fig. 1. Junger Gamet.
„ 2. „ „
„ 3. „ „
„ 4. Ring mit reichem Chromatingehalt.
„ 5. „ „ „ „
„ 6. Beginnende frühzeitige Teilung.
„ 7. „ „ „
„ 8. Frühzeitige Teilung.
„ 9. Desgl., seitlich ein kleines rotes Korn.
„ 10. Parasit $^1/_5$ Blutkörperchen groß, mit 2 großen Kernen.
„ 11. „ $^1/_4$ „ „ 2 „ „
„ 12. Vorzeitige Teilung; der linke Kern zur Abstoßung bestimmt.

1.

2.

3.

4.

5.

6.

7.

8.

9.

10

11.

12.

13.

14.

15.

16.

17.

18.

19.

20.

21.

22.

23.

24.

[illegible] Verlag von Gustav Fischer in Jena Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Fig. 13. Parasit 1/2 Blutkörperchen groß, mit 2 massigen Chromatin-Kernen.
„ 14. Unterer Kern zur Abstoßung bestimmt.
„ 15. Außer den beiden Kernen noch 2 dunkelrote Körner.
„ 16. Linker oberer Kern zur Abstoßung bestimmt.
„ 17. Der untere Teil von der Einschnürung ab wird abgestoßen; rote Körner.
„ 18. Rechts hellrote Chromatinschleifen freiliegend; links abgesprengte Plasmastücke; der unterste Kern wird abgestoßen.
„ 19. Hellrote abgestoßene Chromatinmassen neben und im Parasiten; rote Körner.
„ 20. Hellrote Chromatinschleifen neben dem Parasiten; rote Körner.
„ 21. Herangewachsener weiblicher Gamet in Teilung; der linke Kern wird abgestoßen.
„ 22. Gamet; der untere Kern wird abgestoßen, ebenso Plasma mit viel Pigment; ein Teil des Pigments bleibt zurück. Rote Körner.
„ 23. Gametoschizonten; der abgestoßene Restkörper zerfallen im Blutkörperchen liegend. Im Schizonten kein Pigment.
„ 24. Dasselbe Bild wie Fig. 23.

Nachdruck verboten.

Tropische und subtropische Süsswasserblutegel als Parasiten im Menschen.

Von Dr. med. et phil. **Carly Seyfarth,** Leipzig,
Kgl. Sächs. Oberarzt d. Res. bei der Deutschen Sanitätsmission für Bulgarien.

Mit 1 Tafel.

Aus tropischen und subtropischen Ländern sind schon viele Fälle beschrieben worden, in denen Blutegel Menschen befallen haben, wochen- und monatelang in deren Innerem als Parasiten gelebt und zu mehr oder weniger ernsten Störungen Veranlassung gegeben haben. In Bulgarien und in der Türkei, auf der ganzen Balkanhalbinsel, wie in Kleinasien gehört dies nicht zu den seltenen Vorkommnissen. Da die richtige Erkennung des Leidens oft Schwierigkeiten macht, müssen alle hier tätigen Aerzte von diesen als Parasiten im Menschen vorkommenden Blutegeln Kenntnis haben, um im gegebenen Falle keine Fehldiagnose zu stellen. Durch Mitteilung mehrerer Fälle und die Zusammenstellung der vorhandenen Literatur will ich auf diese eigenartigen Parasiten aufmerksam machen:

Fall I. Gefreiter Sp. G. G.

In der Nacht vom 26. zum 27. Juli 1916 hat er bei einem Nachtmarsch aus einem der hier üblichen offenen Brunnen Wasser getrunken. Seit dieser Zeit hat er Schmerzen beim Schlucken, Atemnot, hustet Blut aus und „blutet aus dem Munde“. Er gibt an, daß der alte erfahrene Regimentsfeldscher ihm gesagt habe, daß er vielleicht einen Blutegel im Halse habe. Der Feldscher hat vergebliche Versuche gemacht, den Blutegel zu entdecken und zu entfernen. Weitere Versuche sind im 4. Feldspital, noch andere im bulgarischen Garnisonlazarett X gemacht worden. Am 5. Aug. 1916 wird der Pat. nach der von mir geleiteten Sekt. II des bulgarischen Divisionsspitals in G. überwiesen und zwar mit der Diagnose: „Haemorrhagia ex ore; Anaemia permagna“.

Großer, kräftiger Infanterist in gutem Ernährungszustand. Pat. ist auffallend anämisch. Temperatur normal. Pat. spricht mit heiserer Stimme und klagt über unerträglichen Husten, Atemnot, Schluckbeschwerden und „ständige Blutungen aus dem Mund“. Er fühlt sich schwach, „wie zerschlagen“. Innere Organe ohne Besonderheiten. Hals-, Nasen- und Rachenorgane zeigen keine Veränderungen. Im Sputum geringe blutige Beimengungen. Mit dem Spiegel sieht man undeutlich bei geöffneten Stimmbändern in der Trachea einen graublauen Fremdkörper.

Der Pat. wird mit der Diagnose „Fremdkörper (Blutegel) im Larynx" zur chirurgischen Station verlegt. Der bulgarische Chirurg Dr. Kylieff versuchte, wie es ihm in ähnlichen früheren Fällen gelungen war, den Blutegel durch Betupfen mit konz. Kochsalzlösung peroral zu entfernen. Dies jedoch, wie noch andere Versuche führten hier nicht zum Ziel. Da sich der Allgemeinzustand des Pat. nach Inhalationen von Ol. Terebinthi scheinbar besserte, obgleich Husten und Blutspucken unverändert bestehen blieben, und da der bulgarische Chirurg im Kehlkopf und in der Trachea nichts mehr zu sehen glaubte, hielt er einen Eingriff nicht für angebracht.

Vom 15. Aug. 1916 an verschlechterte sich das Befinden des Pat. Er klagte über dauernde Schmerzen in der Brust und in der Kehlkopfgegend. Die Atemnot wurde größer. Er hustet fortwährend hellrotes, schaumiges Blut aus. Am 17. Aug. war der Pat. vollkommen aphonisch. Kehlkopfbefund (Kgl. Preuß. Stabsarzt Dr. Rudolf Müller) 17. Aug., vorm.: Epiglottis geschwollen und blutunterlaufen, desgl. Aditus laryngis. Proximal der Stimmbänder, die gut beim Anlaut schließen, sieht man einen graublauen, flottierenden Fremdkörper. Daher nachm. 5 Uhr Operation (Stabsarzt Dr. Müller): Wegen mangelnden Instrumentariums zur peroralen Operation Laryngofissur in Lokalanästhesie, vorher 0,015 Morph. subkutan. Schnitt in der Mittellinie vom Zungenbein bis zum Ringknorpel. Eröffnung des Schildknorpels in der Mitte. Auseinanderhalten desselben mit zweizinkigen Häkchen. Jetzt sieht man an der Hinterseite des Kehlkopfes, dieser fest anliegend, von den Stimmbändern in die Trachea herabhängend einen etwa 10 cm langen, blaugrauen Fremdkörper, der mit der Kornzange gefaßt und extrahiert wird. Er erweist sich als ein lebendiger Blutegel. Naht des Knorpels mit Catgut. Etagennaht mit Seide. Atmung erfolgt nach der Operation ungestört durch die Nase.

18. Aug. 1916. Temp. 36,8—37,2. Puls 76—80. Pat. ist benommen, Aussehen sehr blaß. Atmung frei. Lunge nichts Besonderes.

19. Aug. 1916. Temp. 37,9—40,6. Puls 100—130. Atmung frei. Ueber beiden Unterlappen Rasselgeräusche. Dauernd benommen. Muß gefüttert werden. 1 l Kochsalz subkutan.

20. Aug. 1916. Temp. 39,4—40,0—41,0. Trotz Kampfer und Kochsalz nachm. 5 Uhr Exitus.

Die Sektion ergab: Beginnende Lobulärpneumonie beider Unterlappen, keilförmige, hämorrhagische Infarkte in der Lunge, eitrige Bronchitis, fibrinöse Pleuritis und Pericarditis, sowie allgemeine septische Erscheinungen.

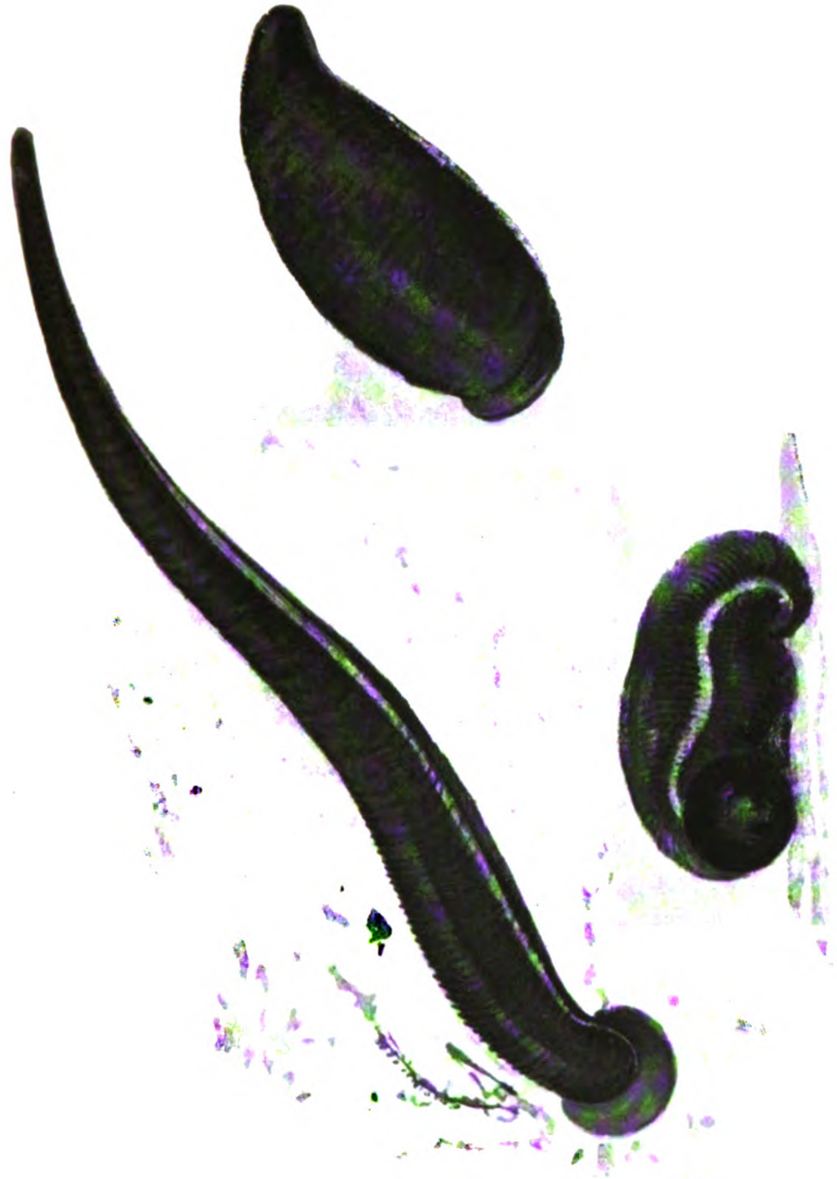
Der Blutegel war ein sehr schön gezeichnetes, in ausgestrecktem Zustand etwa 12—15 cm, zusammengezogen 4 cm langes Exemplar. Rücken dunkelgrün, ohne jede Streifen, Bauch grauschwärzlich. Jederseits ein Orangeband. Es handelte sich um ein Exemplar des weiter unten besprochenen Limnatis nilotica (Sav.), und zwar um eine bisher nicht beschriebene Farbenvarietät, wie der Berliner Zoologe Herr Prof. Dr. Collin, dem der Blutegel lebend übersandt werden konnte, feststellte. Die Liebenswürdigkeit des Ebengenannten, sowie des Direktors des Kgl. Zoologischen Museums in Berlin, Herrn Geh. Rat Prof. Dr. Brauer, ermöglichten es, daß eine farbige Zeichnung hergestellt werden konnte. (Siehe Abbildungen auf der Tafel, hier nur in Schwarz wiedergegeben.) Herrn Prof. Dr. Collin, wie Herrn Geh. Rat Prof. Dr. Marchand-Leipzig verdanke ich ferner viele Literaturangaben und Anregungen, Herr Stabsarzt Dr. Müller manche Hinweise zur vorliegenden Arbeit.

Fall II. Die Kenntnis von einem zweiten Fall verdanke ich der liebenswürdigen Mitteilung des Kgl. Bayr. Stabsarztes d. R. Herrn Dr. Merckle-Frankenthal, zurzeit leitender Chirurg eines bulgarischen Divisionsspitals.

Am Vormittag des 15. Aug. 1916 kam ein 18jähriger bulgarischer Bauernbursche aus einem Dorfe in der Nähe ins Spital. Er klagte über ständiges Blutbrechen. „Wahrscheinlich habe er einen Blutegel im Halse." Er erzählte, daß er seit etwa 2 Wochen Beschwerden habe. Vor 14 Tagen habe er vollkommen ermüdet am Abend in der Dunkelheit aus einem Graben Wasser getrunken. Dann habe er sich in der Nähe im Busch zum Schlafen niedergelegt. Nach 3 Stunden sei er mit Schmerzen im Munde aufgewacht und bemerkte, daß sich Blutegel in seinem Munde festgesetzt hatten. Er selbst, beziehentlich ein Kamerad, entfernte 8 Stück aus seiner Mundhöhle. — In den

Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 79.

Carly Seyfarth, *Tropische und subtropische Süsswasserblutegel etc.*



Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

nächsten Tagen habe er dann viel helles Blut erbrochen, seit einigen Tagen habe er Schmerzen im Halse und eine heisere Sprache.

Anämischer und asphyktischer, kräftig gebauter Bauernbursche. Er holt schwer Atem und spricht mit heiserer Stimme. Bei eröffnetem Munde sieht man im Pharynx an der hinteren Rachenwand anliegend deutlich einen langen, schwarzen Blutegel, der vom Nasenrachenraum bis zur Epiglottis reicht, und dessen obere Anheftungsstelle durch das Gaumensegel verdeckt ist. — Der Blutegel wird mit einer Muzeux- und zwei scharfen Zangen gefaßt und herausgerissen. Es gelingt, ihn lebend und vollständig zu entfernen. Es handelte sich um einen im ausgestreckten Zustande 12—15 cm, im kontrahierten 5 cm langen Blutegel von schwarzgrüner Farbe mit je einem gelbroten Streifen auf beiden Seiten.

Der Patient glaubte sich geheilt und ging zufrieden fort. Am Abend kam er wieder. Er müsse immer noch etwas im Halse haben. In der Kehlkopfgegend habe er Druck- und Schmerzgefühl, und er sei noch immer heiser. Mit dem Kehlkopfspiegel ist anfänglich nichts zu entdecken. Erst bei starken Würgbewegungen sieht man in der Tiefe des Oesophagus einen schwarzen Punkt, der sofort als weiterer Blutegel angesprochen wird. Mit einer stark gebogenen langen Zange gelang es auch, ihn mit einiger Mühe lebend und vollständig zu entfernen. Es handelte sich um einen gleich großen, schwarzgrünen Blutegel mit je 1 roten Streifen an den beiden Seiten.

Drei weitere Fälle aus der europäischen Türkei beschreibt Oberstabsarzt Dr. Härting, Chefarzt in einem Feldlazarett auf dem Balkan, in der Feldärztlichen Beilage zur Münch. med. Wochenschrift. No. 42 vom 7. Okt. 1916. S. 1505.

Drei Türken wurden in sein Feldlazarett geschickt mit der Angabe: sie hätten einen „verme dans la gorge“. „Da eine Verständigung mit ihnen nicht möglich war, ich im Halse aber gar nichts Besonderes sehen konnte und sonst auf den Lungen bei allen drei nur bronchitische Geräusche zu finden waren, so nahm ich zunächst an, es handle sich um das Erbrechen von Ascariden, wie man es ja sehr oft erlebt, und verordnete eine entsprechende Abführkur. Am folgenden Morgen hatten jedoch alle 3 Fälle ziemlich viel hellrotes Blut im Auswurf, so daß ich in meiner Diagnose schwankend wurde. Im Rachen war bei Inspektion mit Spatel und Niederdrücken der Zunge wieder nichts Besonderes zu sehen. Der Kehlkopfspiegelbefund jedoch zeigte bei dem ersten der Türken eine dunkelblaue Masse direkt über den Stimmbändern. Bei der Aufforderung zu würgen, kam denn auch diese dunkelblaue Masse etwas hoch, und beim Fassen mittels gebogener Kornzange faßte ich dann eine weiche, schwammige Masse, die sich durch die Gegenbewegungen des Türken der Kornzange zunächst wieder entzog, aber beim wiederholten Zufassen mit plötzlichem Ruck nach außen gebracht wurde: einen ca. 8 cm langen und 1—2 cm dicken Blutegel, der sich hinten neben der Glottis festgesogen hatte und auf den Stimmbändern lag, so daß der betr. Türke mit ziemlicher Atemnot zu kämpfen hatte. Die plötzliche Befreiung von diesem unangenehmen, atembehindernden Vieh löste dann die stürmischsten, wenig angenehmen Umarmungsszenen gegen seinen erlösenden Arzt aus!

Auch beim zweiten und dritten Türken fanden sich Blutegel in derselben Stellung: direkt im Kehlkopf, und wurden auf dieselbe Weise entfernt.

Wie kamen diese Tiere in den Kehlkopf?

Die hinterher beim türkischen Kollegen erhobenen Erkundigungen ergaben denn, daß diese Türken mit noch soundso viel anderen in einer kleinen türkischen Bahnstation, um ihren Durst nach der heißen Bahnfahrt zu löschen, aus einem Tümpel am Bahnhof getrunken hatten und dabei mit dem Wasser diese Blutegel nichtsahnend verschluckt hatten. Dieselben hatten sich dann an dieser wenig angenehmen Stelle im Halse festgesogen. Entlassung geheilt nach 3 Tagen.“

Einheimische bulgarische Aerzte versicherten mir, daß ihnen derartige Fälle schon oft begegnet seien. Da die „Pijawitzi“ in Alt- und Neubulgarien, sowie in der europäischen Türkei ungemein häufig in Gräben und Tümpeln vorkommen, hätten Menschen und Tiere unter dieser Plage sehr zu leiden.

Aehnliche Fälle sind aus Griechenland (1), Italien, Spanien, Nordafrika und den angrenzenden Küstengebieten und Inselgruppen des Mittelmeeres, aus Armenien und Turkestan beschrieben worden. Seit alters her sind sie auf der Apenninenhalbinsel bekannt, wo bereits Scribonius Largus Pataviensis (2) im Jahre 1655 Blutegel,

„Irudines“, die im Schlunde des Menschen parasitieren, beschreibt, und auf den Balearen, wo Passerat de la Chapelle (3) 1758 über durch Blutegel verursachte Hämorrhagien beim Menschen berichtet. Neuere Beobachtungen aus Italien, Spanien und den Inseln des Mittelmeeres sind zahlreich in der Literatur niedergelegt (4). Besonders häufig scheinen solche Vorkommnisse nach Masterman (5) ferner in Nordpalästina und im Libanongebiet zu sein. Er beobachtete mehr als 36 Fälle. Seit Larrey (6), der als Arzt am Feldzug Napoleons in Aegypten teilnahm, ist bekannt, daß vor allem auch die in Aegypten, Tunis und Algier garnisonierenden europäischen Truppen von Blutegeln heimgesucht werden, die von den Soldaten beim Trinken aufgenommen werden und sich dann im Schlund oder Kehlkopf ansiedeln. Auch aus Indien (7), Japan (8), Formosa (9), der Südsee (10) und anderen tropischen Gegenden (11) sind ähnliche Fälle bekannt geworden.

In fast allen subtropischen Fällen handelt es sich um den sogenannten Pferdeblutegel, **Limnatis nilotica** (Savigny) (Synonyma: Bdella nilotica, Haemopis vorax, Haemopis sanguisuga, Sanguisuga aegyptiaca Moquin Tandon etc.). Savigny, der ihn 1820 zuerst beschrieb, nannte die Gattung Bdella und bezieht sie auf die bei Herodot erwähnten Blutegel (βδέλλα) im Rachen der Krokodile in Aegypten. In Gestalt und Größe ist Limnatis nilotica dem medizinischen Blutegel ähnlich. Der mehr zylindrische Körper zeigt 97 Ringel, hat, vollkommen ausgestreckt, eine Länge von 8—12 cm bei einer Breite von 10—15 mm. Der Körper ist stets weich, vorn allmählich zugespitzt, mit einer kräftigen, muskulösen Haftscheibe am Hinterende. Die schwachen Kiefer tragen etwa 30 stumpfe Zähne. Rücken braun oder grün, manchmal olivenfarbig, selten rötlich oder gelbrot mit mehreren (2, 4, selten 6) schwarzen Längsstreifen, die gelegentlich in Punktreihen zerfallen oder ganz fehlen können. Bauch dunkelgrau gefärbt, selten schwarz gefleckt. Seiten manchmal mit gelblicher oder bräunlicher Längsbinde ohne dunkle Einfassung, bisweilen mit gelber oder grüner Mittellinie gezeichnet. Doch kommen viele Farbenvarietäten vor (12).

Der Parasit lebt in Flüssen, Sümpfen, Teichen und Gräben des ganzen Mittelmeergebietes, Kleinasiens, Nordafrikas, Südeuropas, in Syrien, Armenien, Transkaukasien, Turkestan, Palästina, Aegypten, Tunis, Algier, Canaren, Azoren, Spanien, Pyrenäen, Andalusien, Portugal, Balearen, Sizilien, Sardinien, Italien, Griechenland, Piräus (Kopaïs-See) und, wie ich feststellen kann, in der europäischen Türkei, in Alt- und Neubulgarien. In manchen Gegenden ist er so häufig, daß er Menschen und Tieren zu einer gefährlichen Plage wird. Dies gilt weniger von den ausgewachsenen Tieren als vielmehr von den jugendlichen, nur 1—$1\frac{1}{2}$ cm und noch weniger messenden Egeln, die im Trinkwasser, beim Baden und dergl. besonders in der Dunkelheit vom Menschen verschluckt werden und sich dann lange Zeit im Rachen, in den Nasenhöhlen, im Kehlkopf, in der Luftröhre, in der Speiseröhre und selbst im Magen festsetzen, indem sie sich mit ihrem hinteren großen Saugnapf befestigen. Mitunter findet sich der Parasit auch an der Conjunctiva (8), in der Vagina oder auf anderen Schleimhäuten. Dagegen ist er nie auf der äußeren Körperhaut beobachtet worden. Dort vermag er sich nicht festzusetzen, da er diese wegen seines schwachen Gebisses nicht zu durchbohren vermag. Abweichend von seinen Verwandten verläßt er den einmal befallenen Menschen nicht wieder nach vollzogener Nahrungsaufnahme, sondern bleibt für Wochen und Monate an Ort und Stelle. Die herkömmliche Angabe, daß er zuerst nach dem Magen gelange und von dort nach oben zurückwandere, wird von **Masterman** (5) als unrichtig bezeichnet. Andere englische Autoren, wie **Fenwick** (13), **Albutt** und **Rolleston** (14), behaupten, daß der Blutegel „remains in the stomach for a time and then begins to wander". Ich halte Mund- oder seltener Nasenhöhle für den Anfangssitz, von dem aus er später nach dem Rachen, dem Kehlkopf, der Trachea oder in die Nasenhöhle und ihre Nebenräume wandern kann.

Die vom Blutegel hervorgerufenen Symptome sind sehr mannigfaltig (15). Sie hängen von seinem jeweiligen Sitz ab. Einerseits bestehen sie in Schmerzen, Druckempfindungen und unangenehmen Gefühlen an den befallenen Stellen, verbunden mit Funktionsstörungen des betreffenden Organs: Schmerzen in der Brust, beständigem Husten mit schleimigem, blutigem Auswurf, Atemnot mit oder ohne Cyanose, wenn er im Rachen, Heiserkeit, teilweise oder gänzliche Behinderung des Sprechens, wenn er an den Stimmbändern sitzt, Schluckbeschwerden und Brechreiz, wenn er sich am Kehldeckel oder im Oesophagus befestigt hat. **Fenwick** (13) beschreibt sogar Fälle, in denen lebende Blutegel im Magen als Ursache einer chronischen Dyspepsie gefunden wurden. Zum anderen bestehen sie in anhaltendem Abfluß reinen Blutes von der angegriffenen Stelle, in Nasenbluten, Blutbrechen, Bluthusten, Blutspucken. Bei längerer Dauer führen diese Blutverluste zu zunehmender Abmagerung und zu schweren Anämien. **Masterman** (5) beobachtete Todesfälle nach extremsten Anämien infolge der anhaltenden Hämorrhagien. Mitunter verursachen die Würmer selbst, wenn sie in den Kehlkopf oder in die Trachea gelangen, Erstickungsanfälle und Tod durch Erstickung. **Manson** (9) sah derartige Todesfälle. Auch anhaltende Kopfschmerzen, verbunden mit Nasenbluten, können durch den Sitz des Blutegels in den Nasenräumen verursacht werden. **Manson** (9) berichtet einen Fall von einem amerikanischen Gelehrten, der von einer Forschungsreise ins Innere Formosas zurückgekehrt war. Er hatte unerträgliche Kopfschmerzen und litt an den Folgeerscheinungen schwerster Anämie, die wieder von oft wiederholtem Nasenbluten herrührte. **Manson** entdeckte einen Blutegel in der Nase als Ursache der Blutungen. Es gelang ihm, den Egel, unter Zuhilfenahme von Spiegeln, mit einer Zange zu fassen, ihm eine Salzlösung zu injizieren und ihn so vollständig und lebend zu entfernen. Ganz ähnliche Fälle werden aus Italien berichtet, in denen in den Nasenräumen von Kindern und Erwachsenen sitzende Blutegel unstillbares Nasenbluten und schwerste Anämie hervorriefen (16). **Lalouette** (17) sah einen Soldaten, bei dem ein beim Wassertrinken aufgenommener Blutegel 3 Wochen hindurch unerkannt in den Nasenhöhlen parasitierte und andauerndes Nasenbluten hervorrief. — In 2 von **Kuwahara** (8) beschriebenen Fällen saßen 2—3 cm lange, junge Exemplare von **Hirudo japonica** im Bindehautsack, ohne, von zeitweiligen leichten Blutungen, Lichtscheu und Tränenfließen abgesehen, weitere Beschwerden zu verursachen.

Die Diagnose des Blutegels ist leicht, solange er von außen oder mit Zuhilfenahme von Spiegeln zu sehen ist. Recht oft hilft der Bericht des Kranken, der sich nicht selten des Verschluckens des Blutegels bewußt ist, auf die richtige Spur. Entleerung von Blut und Schleim aus Nase und Mund, Kopfschmerzen, Erbrechen von blutgemischtem Mageninhalt, anhaltendes Aushusten schaumigen Blutes, sowie der gelegent-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

liche Ortswechsel der Symptome sollten stets zur richtigen Erkennung des Leidens führen.

Zur Entfernung der Parasiten wird Gurgeln mit Salzwasser, sowie Einspritzungen oder unmittelbares Auftropfen von konzentrierter Kochsalz- oder dünner Säurelösungen auf ihren Körper empfohlen. Dadurch werden sie zum Loslassen veranlaßt und können mit geeigneten Instrumenten entfernt werden. Nach **Masterman** (5) ist die Betäubung des Egels durch Betupfen mit konzentrierter Kokainlösung sicherer. Sie wirkt in einigen Minuten und verhindert die Tiere beim allenfalsigen Entschlüpfen, sich anderswo wieder festzusetzen. Ein Hinabrutschen in den Magen soll nach **Masterman** (5) nichts schaden, da sie dann dort verdaut werden. Um ein Hinabgleiten in die Trachea zu verhindern, läßt er den Pat. mit tief herabhängendem Kopfe flach liegen. — Den italienischen Aerzten (4) gelang es zumeist, die im Larynx oder der Trachea sitzenden Blutegel mit Hilfe des Laryngoskops und geeigneter Instrumente zu entfernen. Nur wenige von ihnen, ferner der englische Chirurg **Scott-Moncrieff** (7) beseitigten in den Luftwegen sitzende Blutegel durch Tracheo- oder Laryngotomie. In unserem Falle I war der Versuch einer unmittelbaren Entfernung des Blutegels durch Betupfen mit Salz- oder schwachen Säurelösungen nicht angebracht. Da in Ermangelung geeigneter Instrumente ein Hinabgleiten des Parasiten in die Trachea zu befürchten war, kam nur eine Extraktion durch Laryngofissur in Frage. Von vornherein ungünstig für unseren Pat. war die hochgradige Anämie, hervorgerufen durch die starken Blutungen während des 22 Tage dauernden Aufenthaltes des Blutegels im Kehlkopf, wodurch einer allgemeinen Sepsis der beste Boden bereitet war.

Literatur.

1) **Aigre**, D., Sangsue dans le pharynx. (Arch. de parasitol. T. 2. 1899. p. 141—142.) [**Limnatis nilotica** im Pharynx eines Kindes, infiziert im Piräus, operiert in Boulogne-sur Mer.]
Blanchard, R., A propos de sangsues fixées dans le pharynx. (Ibid. p. 143—144.) [Besprechung der vorstehenden Mitteilung von **Aigre** mit Zusätzen.]
2) **Scribonius Largus**, Compositiones medicae. Patavii 1655. p. 108. No. 199.
3) **Passerat de la Chapelle**, Hémorrhagies occasionnées par des sangsues. (Journ. de méd., chir. et pharm. etc. T. 7. 2. 1758. p. 127.) [Balearen.]
Dujardin et Peyrille, Histoire de la chirurgie depuis son origine jusqu'à nos jours. Paris 1774—1780. T. 2. p. 51. [Balearen.]
4) **Marcacci**, G., Di una mignatta attaccata alla laringe levata dopo 23 giorni. (Riv. scientif. public. per cura della R. Accad. dei fisio-critici, classe d. sci. fis. Vol. 2. Fasc. 2. 1870. p. 117.)
Ficano, Sanguisuga in trachea. Estrazione per le vie naturali. (Bollett. d. malattie d' orecchio, naso e gola. Settembre 1892.)
Condorelli Francaviglia, M., Mignatta in trachea espulsa un anno dopo che vi era penetrata. (Bollett. Soc. zool. ital. Ser. 2. Vol. 7 (anno 15). 1906. p. 1—10.) [Catania.]
Ridola, Caso di sanguisuga in trachea. (Arch. ital. di laringol. Vol. 14. Aprile 1894.)
Palazzolo, N., Sanguisuga in laringe. Estrazione per le vie naturali. (Bollett. d. malattie d' orecchio, naso e gola. Settembre 1895.)
Citelli, C., Sanguisuga della trachea e nel rinofaringe. Estrazione per le vie naturali. (Arch. ital. di otol., rinol. e laringol. Vol. 12. Fasc. 4. 1902.)
Clementi, G., Caso raro di mignatta della glottide e della trachea. (Osservatore medico. Palermo 1874. No. 5 u 6.) [Sizilien.]
—, —, Caso rarissimo di una sanguisuga, adesa allo interno della glottide e della trachea, segnalata dal laringoscopio e felicemente estratta. (Gaz. med. ital., prov. venete. Vol. 17. 1874. p. 381.) [Sicilien.]
Calandruccio, Animali parassiti dell' uomo in Sicilia. (Atti. Acc. gioenia di sci. nat. Ser. 4. Vol. 2. Catania 1889. p. 38.) [Sicilien.]

Massei, F., Corpo estraneo nella laringe. Estrazione per le vie naturali. (Morgagni. Vol. 16. 1874. p. 749.) [Neapel.]

Mollica, G., Contributo clinico alle tracheotomie di urgenza per mignatta. (Gaz. d. osped. e d. clin. 1903. No. 23.)

Sailla, S., Casistica di sanguisuga in laringe. (Rassegna internaz. d. med. moderna. Ann. 6. 1905.)

Ramon de la Lota y Lastra, Una mignatta estratta della laringe quindici giorni dopo che vi era penetrata. (Arch. ital. di laring. Ann. 3. 1883—84. p. 69—72.)

Maissuriantz, Rev. intern. d. sci. med. 1887. No. 1.

Condorelli Francaviglia, M., Mignatta in laringe, diagnosi eserassia. (Riform. med. Vol. 10. 1894. p. 601—603, 613—615.)

Masucci, Contributo alla casuistica dei corpi stranieri nella trachea. (Rassegna crit. intern. d. malatt. del naso, gola ed orecchio. Giugno 1892.)

Blanchard, R., Révision des Hirudinées du Musée de Turin. (Bollett. d. Mus. di zool. ed anat. comp. Univ. Torino. Vol. 8. 1893. p. 16—23.)

—, —, Hirudinées de l'Italie continentale et insulaire. (Bollett. d. Mus. di zool. e anat. comp. Univ. Torino. Vol. 9. 1894. p. 43—48.)

—, —, Sanguijuelas de la peninsula Ibérica. (Ann. Soc. Esp. de hist. nat. T. 22. 1893.)

Creus, Gaceta méd. de Cataluña. Vol. 1. 1878. No. 11. [Spanien.]

5) **Masterman**, E. W. G., Hirudinea as human parasites in Palestina. (Parasitology. Vol. 1. 1908. p. 182.)

6) **Larrey**, D. J., Relation historique et chirurgicale de l'expédition de l'armée d'Orient, en Égypte et en Syrie. Paris an 11. 1803. p. 154—160. (Mém. de chirurg. milit. et camp. Paris. T. 1. 1812—1817. p. 359—366.)

Guyon, Sur la présence de l'**Haemopis vorax** dans le larynx et trachée de l'homme. (Compt. rend. Ac. sci. Paris. T. 13. 1841. p. 785 u. 1155.) — Note sur l'**Haemopis**. (Ibid. T. 17. 1843. p. 424 u. 688.) [Algier.]

Vgl. auch **Méguin**, Sangsues d'Algérie et de Tunisie ayant séjourné plus d'un mois dans la bouche de boeufs et de chevaux. (Bull. Soc. zool. de France. T. 16. 1891. p. 222.)

7) **Scott-Moncrieff**, W. E., Some cases of leech in the air passages. (Indian med. Gaz. Vol. 46. 1911. p. 465—466.)

8) **Kuwahara**, R., Ueber lebende Hirudineen im Bindehautsack des menschlichen Auges. (Centralbl. f. prakt. Augenheilk. Bd. 27. 1903. S. 262, 263.)

9) **Manson, Patrick**, Tropical diseases. 2. edit. London 1903 p. 715, 716.

10) Schriftliche Mitteilung des Herrn Marine-Generaloberarztes Prof. Dr. **Mühlens**.

11) Vgl. **Braun, Max**, u. **Seifert, Otto**, Die tierischen Parasiten des Menschen. 5. Aufl. Bd. 1 u. 2. Würzburg 1915/1916, die auch noch andere Quellen und Fälle, als die hier angeführten, aufzählen.

Vgl. ferner **Loos**, A., Würmer und die von ihnen hervorgerufenen Erkrankungen. **Carl Mense**, Handb. d. Tropenkrankh. 2 Aufl. Leipzig 1914. Bd. 2. S. 514—516.

Nothnagel, Herm., Spez. Path. und Therapie. Bd. 6.

Mosler, F., u. **Peiper**, E., Tierische Parasiten Wien 1894. S. 188.

Leuckart, Rud., u. **Brandes**, **Gust.**, Die Parasiten des Menschen. 2. Aufl. Bd. 1. Abt. 2. Leipzig 1886/1901. S. 874. 886.

Scheube, B., Die Krankheiten der warmen Länder. 4. Aufl. Jena 1910. S. 829—831.

Plehn, F., Tropenhygiene. Jena 1902. S. 148.

Ruge, R., u. **zur Verth**, M., Tropenkrankheiten und Tropenhygiene. Leipzig 1912. S. 361, 362.

Brault, J., Maladies des pays chauds et tropicaux. Paris 1900. p. 458.

—, —, Contribution à la géographie médicale des pays chauds. (Janus. Jahrg. 6. Harlem 1901. p. 199.)

Pineau, Notes sur la sangsue des bois de Cochinchine etc. (Arch. de méd. nav. T. 63. 1894. p. 341.)

Blanchard, R., Viaggio di **Leonardo Fea** in Birmania e regioni vicine; Hirudinées. (Ann. Mus. civ. stor. nat. Genova. T. 14. p. 113—114.)

12) Vgl. die zoologische Hauptliteratur über **Limnatis nilotica** und Synonyma, zusammengestellt von **Collin**-Berlin:

1820. **Bdella nilotica** Savigny, Système des Annélides etc. (Description de l'Égypte. Hist. nat. T. 1. Part. 3. p. 113. Atlas Tab. 5. Fig. 4.)

1826. **Haemopis vorax** (part.) Moquin-Tandon, Monographie de la famille des Hirudinées. Montpellier 1826. p. 108 sequ. Tab. 4. Fig. 5 a, b.

1826. **Limnatis nilotica** (Sav.) Moquin-Tandon. Ibid. p. 122.
1846. **Haemopis sanguisuga** Moquin-Tandon, Monographie de la Famille des Hirudinées. Nouv. édit. Paris 1846. p. 318 sequ. atlas tab. 6.
1846. **Limnatis nilotica** (Sav.) Moquin-Tandon. Ibid. p. 350—351.
1891. „ „ „ **Blanchard, R.**, Sur la sangsue du nord de l'Afrique (**Limnatis nilotica** Savigny, 1820). (Bull. Soc. zool. France. T. 16. 1891. p. 218—221; Compt. rend. Soc. biol. Paris. Oct. 1891.)
1893. „ „ „ **Blanchard, R.**, Sanguijuelas de la peninsula Ibérica. (Anal. Soc. Esp. de hist. nat. Vol. 22. 1893. p. 253—257. Fig. 6.)
1894. „ „ „ **Blanchard, R.**, Hirudinées de l'Italie continentale et insulaire. (Bollett. dei Musei zool. ed anat. comp. Torino. Vol. 9. 1894. p. 43—48.)
1912. „ „ „ **Rousseau**, Les Hirudinées d'eau douce d'Europe. (Ann. biol. lacustre. T. 5. Fasc. 4. Bruxelles 1912. p. 279—280.)

13) **Fenwick, W. Soltau**, The existence of living creatures in the stomach as a cause of chronic dyspepsia. (Brit. med. Journ. 1910. Vol. 1. p. 371.)

14) **Albutt and Rolleston**, System of medicine. 2. edit. Vol. 2. P. 2. p. 959.

15) Vgl. **Charasse**, Des accidents causés par l'introduction de l'**Haemopis** dans les voies aériennes de l'homme. (Arch. méd. et pharm. milit. 1893.)

16) **Condorelli Francaviglia**, A proposito di un grave caso di epistassi prodotto da puntura dell' Hirudo sanguisuga Bergmann. (Lo Spallanzani. Vol. 30. 1892. No. 10; Bollett. Soc. Rom. per gli sc. zoolog. Vol. 1. 1892. p. 233.) [Sizilien.]

17) **Lalouette**, Observation sur une sangsue avalée en bouvant et fixée pendant trois semaines dans les fosses nasales. (Rec. méd., chir. et pharm. milit. T. 10. 1821. p. 406.)

(G. C.)

Inhalt.

Brünn, W., Beschleunigte Schizogonie bei Malaria tertiana und dadurch bedingte Umwandlung des Tertianafiebertypus in einen quotidianen, S. 84.

Gildemeister, E., Weitere Mitteilungen über Variabilitätserscheinungen bei Bakterien, die bereits bei ihrer Isolierung aus dem Organismus zu beobachten sind, S. 49.

Konrádi, Daniel, Die Vererbung der Immunität gegen Lyssa. Dritte Mitteilung, S. 80.

Konrádi, Daniel, Die Vererbung der Wut. Vierte Mitteilung, S. 82.

Pfeiler, W., Ergebnisse der Untersuchung von 100 mittels der K.H.-Reaktion zum Zwecke der Feststellung syphilitischer Infektionen geprüften Serumproben, S. 62.

Seligmann, E., Zur Bakteriologie der Ruhr im Kriege, S. 71.

Seyfarth, Carly, Tropische und subtropische Süßwasserblutegel als Parasiten im Menschen, S. 89.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 79. Heft 3.

Ausgegeben am 28. Februar 1917.

Zur Kenntnis des Paratyphus A.

II. Das Verhalten und die Variabilität des B. paratyphosus A in Mannitnutroselösung nach Barsiekow-Hetsch.

Von Prof. Dr. **Ernst Lehmann**, Tübingen,
z. Z. Vorstand der bakter. Abteilung der hyg.-chem. Untersuchungsstelle Ulm.

Inhaltsübersicht: 1. Die Literatur. 2. Der Nährboden. 3. Verimpfung aus Bouillon. 4. Verimpfung aus Agar. a) Variabilität der Koagulationsdauer. b) Koagulationsdauer bei verschiedenen A-Stämmen. c) Differenzen innerhalb derselben Stämme (verschiedene Nährbodenmenge; Menge des verimpften Materials; verschiedene Wachstumsgeschwindigkeit einzelner Stämme; Variationsbreite). 5. Schlußfolgerung für die Laboratoriumspraxis. 6. Schlußfolgerungen theoretischer Art.

1. Die Literatur.

Schon bei meiner ersten Bearbeitung der Paratyphus A-Bazillen aus der Ulm-Wiblinger Epidemie wies ich darauf hin, daß die Gärungsverhältnisse des B. paratyphi A in Barsiekow (Hetsch)-Mannit-Nutroselösung noch nicht völlig geklärt seien. Ich fand sowohl Widersprüche in der Literatur als auch recht wechselnde Resultate bei verschiedenen meiner Stämme. Ich bin nun dieser Frage einmal aus rein praktisch-diagnostischen Gründen, dann aber auch unter anderen, später noch zu besprechenden Gesichtspunkten weiter nachgegangen und möchte meine Erfahrungen im folgenden kurz darlegen.

1901 berichtete Barsiekow, daß es ihm gelungen sei, Typhus-, Coli- und Alcaligenesbazillen dadurch zu differenzieren, daß er die Säurebildung in einer Nährlösung von Nutrose und Lackmuslösung, der Traubenzucker bzw. Milchzucker zugesetzt war, beobachtete. Während bei Gegenwart von Milchzucker die Säurebildung durch Coli zu sehr intensiver Rötung und Ausfällung des Kaseins der Nutrose führte, kam es durch Typhusbazillen zu keiner Veränderung der Nährlösung. Bei Gegenwart von Traubenzucker aber wurde durch intensive Säurebildung sowohl des Coli- als des Typhusbacillus starke Rötung und Koagulation hervorgerufen.

1903 fügt dann Hetsch noch den Mannit zur Diagnostik bei. Während aber Barsiekow, abgesehen von Alcaligenes, nur Coli

Tabelle 1.

Kultur	Nach 24 Stunden		Nach 48 Stunden	
	Aussehen der Kultur	Säurebildung	Aussehen der Kultur	Säurebildung
Typhus Schweizer	Starke Rötung, keine Koagulation	0,34	Starke Rötung, keine Koagulation	0,52
Typhus C	Dgl.	0,30	Dgl.	0,52
Paratyphus A	Starke Rötung, geringe Koagulation	0,36	Starke Rötung, geringe Koagulation	0,52
Paratyphus B	Starke Rötung, geringe Koagulation, Gasbildung	0,38	Starke Rötung, Koagulation, Gasbildung	0,54
Saarbrücken	Dgl.	0,44	Dgl.	0,60
Coli	Starke Rötung, Koagulation, Gasbildung	1,1	Dgl.	1,46

und Typhusbazillen mit seinen Lösungen differenzieren wollte, werden von Hetsch auch die beiden, zwischen Typhus und Coli stehenden Paratyphusbazillenformen miteingeführt. Wir betrachten am besten die von ihm zusammengestellte Tabelle (S. 97).

Nach dieser Tabelle wäre es möglich, nach 24 Stunden Typhus, Paratyphus A- und B-Bazillen dadurch zu unterscheiden, daß bei Typhus nur Rötung, bei Paratyphus A Rötung und geringe Koagulation, bei Paratyphus B aber Rötung, Koagulation und Gasbildung zu beobachten ist. Der Grad der Säurebildung entspräche diesem äußerlich sichtbaren Ausfall. Bezüglich der angegebenen Zahlen sagt Hetsch allerdings: Jene Zahlen, die sich aus den gebrauchten Alkali- bzw. Säuremengen dann leicht berechnen ließen, können natürlich keine bindenden und sich stets gleich bleibenden Werte darstellen, die eventuell zur Artunterscheidung verwendet werden können. Sie schwanken vielmehr in gewissen Grenzen.

Während aber hiernach Typhusbazillen Mannit Barsiekow nur röten, Paratyphus A ihn röten und schwach koagulieren, Paratyphus B aber röten, stark koagulieren und zudem noch Gas bilden sollen, berichten im Jahre 1909 Baermann und Eckersdorff, der Paratyphus A-Bacillus solle zwar, ebenso wie Typhus und Paratyphus B, Barsiekow-Mannit röten, im Gegensatz zu Typhus und Paratyphus B, aber nicht koagulieren. Diese Angabe ist dann in Uhlenhuth und Hübener (in Kolle-Wassermann, 1913) und Hübener (1910) übergegangen. Auch neuerdings wurde diese Auffassung wieder von Schmitz und Kirschner, Svestka etc. vertreten. Speziell betont dies Frenzel (1916) mit folgenden Worten: „In bezug auf die Biologie des bei vorliegendem Falle gezüchteten Paratyphus A-Stammes sei noch erwähnt, daß auch bei einer Anzahl weiterer in den letzten Monaten hier gezüchteten Paratyphus A-Stämme die Koagulation der Barsiekowschen Lackmusmannitnutroselösung durchweg erst im Laufe des zweiten Tages nach Beginn der Bebrütung eintrat, im Gegensatz zu Paratyphus B-Stämmen, wo sie schon nach 15 Stunden Brutschrank vollständig war. Sämtliche mit Paratyphus A-Bazillen beschickten Nährböden dieser Art waren nach 24 Stunden zwar gerötet, aber noch vollständig klar. Diese Beobachtung haben übrigens auch Schmitz und Kirschner gemacht, die viele Paratyphus A-Erkrankungen beobachteten ... Bei der von Lehmann, Mäulen und Schricker beobachteten Epidemie in Ulm zeigten nach der Mitteilung von Lehmann die gezüchteten Stämme diesen Unterschied gegen Paratyphus B nicht.“ Umgekehrt sagt aber Ditthorn (1913): Meine Versuche mit Mannit ergaben, daß die 5 Paratyphus A-Stämme ebenso nach 24 Stunden Koagulation hervorgerufen hatten, wie dies bei 32 Enteritis-, 15 Paratyphus B- und 11 Typhusstämmen der Fall war. In Mohr und Staehelins Handbuch der inneren Medizin gibt sodann Schottmüller sehr schöne, bunte Tafeln zur Differenzierung von Typhus, Paratyphus A und Paratyphus B. Nach diesen geht die Reaktion in Barsiekow-Mannit nun aber wieder etwas anders vor sich. Typhus bildet danach weder Gas, noch koaguliert er, Paratyphus A bildet viel Gas und koaguliert ziemlich stark, Paratyphus B tut beides weniger, doch soll er, nach der Tabelle p. 577, stärker trüben. Wiederum im Gegensatz hierzu, bringen Kolle und Hetsch (1916) Barsiekow-Mannit zwar auch unter den Diagnostika der Typhus-Coli-Gruppe, sagen aber dort für Typhus: Rötung, Gerinnung, keine Gasbildung; für Paratyphus A: Rötung bis Gerinnung, keine Gasbildung; für Paratyphus B: Rötung, Gerinnung, Gasbildung.

Man sieht, auch wenn man die hervorragendsten Hilfsmittel medizinisch-bakteriologischer Diagnostik heranzieht, über das Verhalten der Typhus- und Paratyphusbazillen in Barsiekow-Mannit herrschen die größten Widersprüche. Besonders klar aber werden diese Widersprüche, wenn man die Angaben über das Verhalten von Paratyphus A-Bazillen in Barsiekow-Mannit bei einer etwas größeren Anzahl Autoren tabellarisch zusammenstellt.

Tabelle 2.

Autor	Nach Stunden		Nach Tagen							Ohne Zeit
	24	48	3	4	5	6	10	15	22	
Hetsch	starke Rötung, geringe Koagulation	starke Rötung, geringe Koagulation	.	.	.	.	.	.	.	.
Segin	nicht koaguliert, schwach sauer	nicht koaguliert, schwach sauer	nicht sichere Trübung	undeutliche Trübung	undeutliche Trübung	undeutliche Trübung	.	.	.	.
Ditthorn	Koagulation	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Schottmüller (in Mohr-Staehelin, 1911)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Rotfärbg. + Gasbildg. + Trübung +
Weber u. Händel	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Rötung bis Gerinnung, keine Gasbildung
Baermann u. Eckersdorff	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Rötung, keine Koagulation
Schmitz u. Kirschner	gerötet, keine Gerinnung	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Svestka	unverändert	unverändert	.	.	.	.	.	.	.	.
Schroeter und Gutjahr	geringe Rötung	geringe Rötung	.	geringe Rötung	.	.	Gerinnung, Gas	Gerinnung, Gas	Gerinnung, Gas	.
Kolle u. Hetsch	.	.	.	.	.	.				Rötung bis Gerinnung, keine Gasbildung
Frenzel	gerötet klar	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Man ist erstaunt über die Mannigfaltigkeit der Resultate bei einer Reaktion, die sich teilweise besonderer diagnostischer Beliebtheit erfreut. Z. B. sagen Weber und Haendel (1912): „Im allgemeinen werden jetzt wohl ziemlich übereinstimmend für die genauere kulturelle Differentialdiagnose der der Typhusgruppe zuzurechnenden Bakterien außer den beiden Loeffler-Lösungen hauptsächlich noch 9 andere Nährmedien, nämlich Milch, Lackmusmolke, die Nährlösungen Barsiekow I und II, die Nährlösung nach Hetsch, Neutralrotagar, Orceinagar, sowie Traubenzucker und Milchzuckerbouillon verwertet. Eine möglichst einheitliche und an allen in Betracht kommenden Stellen gleichmäßig durchgeführte Benutzung solcher bestimmten Nährsubstrate könnte für Erkenntnis der kulturellen Verhältnisse bei den hierhergehörigen Bakterien wie für die Erzielung übereinstimmender Resultate nur förderlich sein.

Bei den im Kaiserlichen Gesundheitsamte durchgeführten Untersuchungen sind die genannten Nährböden jedenfalls regelmäßig herangezogen und die besten Erfahrungen damit gemacht worden, so daß dieses Vorgehen in jeder Hinsicht bestens empfohlen werden kann. — Die nachstehende Tabelle enthält eine Zusammenstellung des Wachstums der hauptsächlichsten Vertreter der der Typhusgruppe zuzurechnenden Bakterien auf den angeführten Nährböden. — Es ist dabei allerdings zu erwähnen, daß die Tabelle nur eine schematische Uebersicht über die Wachstumsverhältnisse der einzelnen Bakterienstämme gibt, da bei Prüfung einer großen Anzahl von Kulturen derselben Art sich doch mitunter mehr oder weniger stark ausgesprochene Schwankungen bezüglich der Intensität des chemischen Reaktionsausfalles auf dem einen oder dem anderen Nährboden geltend machen können, die zum Teil allerdings auch von der Art der verwendeten Zuckerpräparate abhängen. Im allgemeinen darf man aber doch das in der Tabelle angegebene Verhalten als das für die einzelnen Bakterienarten charakteristische bezeichnen."

	In Hetsch
Typhus	Rötung, Gerinnung, keine Gasbildung
Paratyphus A	Rötung bis Gerinnung, keine Gasbildung
suis Glaeser	unverändert
Voldagsen	dgl.
Paratyphus B	Rötung, Gerinnung, Gasbildung
Enteritidis	dgl.
Coli	"

Es dürfte nun nach alledem kaum noch einer besonderen Begründung bedürfen, daß es geboten ist, den von Weber und Haendel angedeuteten Schwankungen im Reaktionsausfall etwas weiter nachzugehen und die Frage aufzuwerfen, inwieweit dieselben die diagnostische Verwendbarkeit etwa beeinträchtigen und die mannigfaltigen Widersprüche in der Literatur erklären; es ist allerdings mit den hier zur Verfügung stehenden Hilfsmitteln nicht möglich, die Frage der Gasbildung einer näheren Untersuchung zu unterziehen. Nach den Untersuchungen Friebers bedarf es hierzu komplizierter Apparaturen; auch eine quantitative Untersuchung der Gärungsprodukte war nicht möglich. Ich habe mich infolgedessen auf die Untersuchung der Säurebildung beschränkt, insoweit sie diagnostisch in Frage kommt.

Sehen wir uns in der Literatur noch etwas weiter um, so finden wir auch bei anderen Autoren Hinweise auf Abweichungen der Säurebildung in Barsiekow-Lösungen.

Schon 1905 hat Krencker die Vergärungsverhältnisse der Angehörigen der Typhus-Coli-Gruppe etwas näher untersucht. Es zeigte sich dabei beispielsweise, daß verschiedene Typhusstämme kleine Unterschiede in der Säurebildung und Gerinnung in Traubenzuckernutrosenährböden aufwiesen, indem nach 1—3 Tagen, aber auch erst nach Wochen (!), Säurebildung und Gerinnung eintrat.

Schern (1910) berichtet dann Aehnliches über Xylosenährböden für Paratyphus B.

Ganz besonders aber hat Ditthorn eine große Anzahl von Typhusstämmen in ihrem Verhalten gegenüber Traubenzucker eingehend geprüft. Er kommt zu dem Ergebnis, daß das Verhalten des Typhusbacillus in Barsiekow-Traubenzucker, geprüft an einer größeren Anzahl von Stämmen, gezüchtet aus Blut, Faeces und Urin, ein ganz unregelmäßiges und wenig konstantes ist. Auch gegenüber Mannit wurde eine ähnliche Unregelmäßigkeit konstatiert.

Sodann haben Raubitschek und Natonek (1913) Typhusbazillen in mit verschiedenen Kohlehydraten und Alkoholen — darunter auch Mannit — hergestellten Barsiekow-Lösungen untersucht. Ihre Versuche zeigen, daß Typhusstämme, die aus verschiedenen Organen ein und derselben Leiche herauskultiviert wurden, sich auf verschiedenen Zuckernährböden durchaus unregelmäßig und regellos verhalten, ähnlich den Typhuskulturen verschiedener Provenienz und bestimmten Laboratoriumsalters; daß aus einer Reinkultur Sekundärstämme gewonnen werden können, die kulturell und agglutinatorisch weder untereinander noch mit der Ausgangskultur übereinstimmen; daß die einzelnen Keime einer Typhusreinkultur und ihre Abkömmlinge auch biologisch untereinander differieren.

Während Ditthorn also ein regelloses Verhalten verschiedener Typhusstämme in den Barsiekow-Lösungen feststellte, glauben Raubitschek und Natonek, daß das Verhalten derselben Typhusstämme in diesen Lösungen ein sehr verschiedenes ist. In allerneuester Zeit hat sich dann noch Köhler etwas eingehehender mit der Variabilität von Paratyphus A in Barsiekow-Lösungen beschäftigt. Ich komme auf diese Arbeit, welche mir erst kurz vor Abschluß meines Manuskriptes zuging, weiter unten noch öfter zurück.

Wenn wir nun der Frage nach dem wechselvollen Verhalten von Typhus- und Paratyphusstämmen nachgehen, so müssen wir vor allem den Bedingungen, unter denen die Kulturen angestellt werden, unsere besondere Aufmerksamkeit zuwenden. Die jedesmalige Zusammensetzung des Nährbodens, die Reinheit der Komponenten, das Alter der Ausgangskultur und die Menge des verimpften Materials sind wohl die Hauptfaktoren, welche hier modifizierend einzugreifen imstande wären.

Während die meisten Autoren über diese Punkte nichts Näheres verlauten lassen, hat Ditthorn in erster Linie auf die Komponenten des Nährbodens geachtet. Er kommt zu dem Ergebnis, daß der Nutrose keine erkennbare Bedeutung für den Ausfall der Reaktion zukommt, daß dagegen das Zuckerpräparat sowie Besonderheiten der Kultur das Ergebnis beeinflussen. Leider werden über Alter der verwendeten Kultur und Menge des verimpften Materials keine näheren Angaben gemacht.

Raubitschek und Natonek verwenden für ihre Versuche stets gleich alte Kulturen übereinstimmender Herkunft. Die Nährlösungen werden gleichmäßig hergestellt, auf die Verwendung möglichst gleicher Mengen von Kulturmaterial wurde besondere Sorgfalt verwendet!

Am weitgehendsten berücksichtigt sind diese Faktoren aber bei **Köhler**, welcher, neben der Herstellung des Nährbodens und dem Alter der Kultur, auch der Menge des verimpften Materials schon besondere Bedeutung zuwies.

Um nun die so außerordentlich widersprechenden Literaturangaben über die Mannitvergärung durch Paratyphus A-Bazillen möglichst weitgehend klären und auf bestimmte Ursachen zurückführen zu können, mußte ich anfänglich versuchen, verschiedene Wege einzuschlagen. Ich bediente mich also zu meinen Untersuchungen einer größeren Reihe von Stämmen allerverschiedenster Herkunft[1]); ich verwendete frische und länger in Kultur gehaltene Stämme, veränderte das Substrat und die Menge der eingeimpften Substanz. Um die Brauchbarkeit zu Diagnosezwecken klarzustellen, knüpfte ich anfangs durchaus an gewöhnliche Laboratoriumsverhältnisse an, wobei ich mich aber naturgemäß bestrebte, die Versuchsbedingungen möglichst günstig zu gestalten. Als Kriterien für das Versuchsergebnis benutzte ich anfangs, wie **Ditthorn**, verschiedene Stufen der Veränderung des Nährbodens: unverändert, gerötet, opalesziert, gefällt, koaguliert. Ich ließ diese stufenweise Bezeichnung dann aber beiseite und hielt mich in der Hauptsache nur daran, ob in den Röhrchen zu bestimmten Zeitpunkten Koagulation festzustellen war oder nicht.

2. Der Nährboden.

Betrachten wir nun zuerst die Herstellung des Nährbodens und dann die in ihm verlaufende Reaktion.

Der Nährboden wurde, wo nichts anderes mitgeteilt wird, stets, wie folgt, hergestellt:

4 g Nutrose (**Kahlbaum**) und 2 g NaCl werden zu 400 ccm destillierten Wassers gegeben. Die Lösung wird $^3/_4$ Stunden im Dampftopf sterilisiert. Nach der Sterilisation werden sogleich 300 ccm abfiltriert. Inzwischen wurden 3 g Mannit in 15 ccm Lackmuslösung unter leichtem Erwärmen gelöst. Darauf wird die Lösung dem Filtrat zugegeben. Der so fertiggestellte Mannit **Barsiekow** wird hierauf zu je 4 ccm in Reagenzröhrchen abgefüllt, welche 20 Minuten im Dampftopf sterilisiert werden. Es sei ausdrücklich hervorgehoben, daß ich mich, sofern nichts Besonderes bemerkt wird, stets durchaus an die oben gegebene Vorschrift gehalten habe, und daß in erster Linie nie länger sterilisiert wurde. Vor dem Gebrauch wurden stets sämtliche Röhrchen im Brutschrank auf Sterilität geprüft.

Wie sehr eine nur minimal abweichende Herstellung des Nährbodens auf den Ausfall der Reaktion von Einfluß ist, ergeben die Versuchsresultate von **Schmitz** und **Kirschner**, nach denen ihre Paratyphus A-Stämme, **Barsiekow**-Mannit nicht koagulierten. Herr Dr. **Materna**, in dessen Laboratorium die Versuche ausgeführt wurden, teilte mir aber mit, daß dies Versuchsergebnis nur anfangs eintrat, als die **Barsiekow**-Lösungen nicht ganz lege artis hergestellt wurden, während später, wie ich mich an den mir von Herrn Dr. **Materna** freundlichst überlassenen Stämmen auch selbst überzeugen konnte, Koagulation eintrat.

---

[1]) Für Uebersendung von Paratyphus A-Stämmen bin ich zu Danke verpflichtet Herrn Generalarzt Prof. Dr. **Bonhoff**, Herrn Oberstabsarzt Geh. Rat Prof. Dr. **Uhlenhuth**, Herrn Dr. **Materna**, Herrn Dr **Köhler**, Herrn Stabsarzt Dr. **Holle**, Herrn Dr. **Bumke**. Die Stämme wurden sämtlich mit hochwertigem Paratyphus A-Serum vom Reichsgesundheitsamt austitriert, mit den üblichen biologischen Methoden geprüft und einwandfrei befunden.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nach Beimpfung spielen sich nun die folgenden Vorgänge in dem Nährboden ab. Abgesehen von der hier aus oben erörterten Gründen nicht berücksichtigten Gasbildung, beruht die Reaktion im Barsiekow-Mannit auf den bei der Vergärung durch die Bakterien entstehenden organischen Säuren, welche in geringen Mengen zunächst den Lackmusfarbstoff röten, sodann durch steigende Ausfällung des Kaseins die Nährlösung trüben, bis schließlich eine deutliche Koagulation zustande kommt. Die Säuremengen, welche hierzu, gemessen an Essigsäure, bei der verwandten Nährlösungsmenge nötig sind, sind ungefähr die folgenden:

Bis zur deutlichen	Rötung	ca. 2	ccm	$^{1}/_{100}$	normal
„ „ „	Trübung	„ 3,5	„	„	„
„ „ „	Koagulation	„ 5	„	„	„

Die Schwierigkeit bei dieser Einteilung liegt aber an der Unsicherheit des Ausgangspunktes. Derselbe ist in der Barsiekow-Mannit-Lösung nicht einwandfrei festzulegen. Ein scharfes Umschlagen am Neutralpunkt, wie in der reinen Lackmuslösung, gibt es in der Lackmusnutroselösung nicht. Die Rötung erfolgt nach und nach, was wohl auf dem amphoteren Charakter der Nutrose beruht; man bedarf von Mannit Barsiekow, der mit von Kahlbaum beziehbarer Kubel-Tiemannscher Lackmuslösung hergestellt wurde, bis zum Eintritt einer Veränderung, die sich noch kaum vom Neutralpunkt entfernt, ca. 1,0 ccm $^{1}/_{100}$ norm. Essigsäure.

Benütze ich nun aber alkalihaltige, gewöhnliche Reagenzgläser, so werden die Werte etwas anders. Nach 20 Minuten langem Sterilisieren solcher Gläser mit Lackmusmannitlösung im Dampftopf kann so viel Alkali aus den Gläsern herausgelöst sein, daß 0,3—0,4 ccm Essigsäure $^{1}/_{100}$ norm. nötig sind zum Ausgleich gegenüber den unsterilisierten. Mit längerem Sterilisieren, oder auch nur bei Stehenlassen im Dampftopf zum Abkühlen, erhöht sich der Alkaligehalt noch etwas, selbstverständlich in durchaus verschiedenem Maße, entsprechend den verschiedenen Glassorten, der Zeit ihres Gebrauches etc. Umgekehrt wird durch längeres Stehen an der Luft und damit verbundener CO_2-Aufnahme die Alkaleszenz wieder etwas vermindert. Auf der Beschaffenheit des Glases kann demnach, wie aus obigen Zahlen ersichtlich, eine Hemmung im Fortschritt der Reaktion beruhen, welche ca. den 5. Teil der Stufe ausmacht vom Neutralpunkt bis zu deutlicher Rötung, den 4. Teil der zwei folgenden Stufen und den 3. Teil bis zur Erreichung des Umschlagpunktes. Ich bin deshalb sehr bald davon abgekommen, für meine Versuche mit Mannit Barsiekow gewöhnliche, alkalihaltige Reagenzröhrchen zu benutzen. Ich habe zu den hier behandelten Versuchen fast ausnahmslos Reagenzgläser aus alkaliarmem Glas von Schott benützt. So selbstverständlich dies auch unter biologisch-physiologischen Gesichtspunkten erscheinen möchte, so ist eine Betonung dessen im Zusammenhange mit der diagnostisch-klinischen Literatur doch nicht überflüssig. Denn da über die benutzten Gläser in der Literatur nirgends etwas Näheres ausgeführt ist, so ist ohne weiteres anzunehmen, daß zumeist gewöhnliche Gläser benutzt wurden, und daß die Beschaffenheit derselben, wenn auch in untergeordnetem Maße, auf den so verschiedenen Ausfall der Versuche bei den einzelnen Autoren mitbestimmend gewesen sein dürfte. So verschiebt die Beschaffenheit des Glases beim Ablesen der beispielsweise von Ditthorn gebrauchten 4 Zwischenstufen, die an sich schon wenig festgelegt sind, die Resultate ziemlich erheblich. Leider findet sich bei **Ditthorn** keine Angabe, daß alkalifreie Gläser benutzt wurden.

3. Verimpfung aus Bouillon.

Ich habe nun meine Versuche damit begonnen, eine größere Reihe Paratyphus A-Stämme verschiedenen Herkommens auf Lackmusmannitröhrchen zu verimpfen und die Zeit bis zur ersten eintretenden Rötung etc. und bis zur Koagulation zu beobachten. Als Eintritt der Koagulation wurde stets betrachtet, wenn die ausgefällten Kaseinflocken von einer deutlich abgesetzten, klaren Flüssigkeitsschicht überlagert waren. Ich benutzte anfangs stets 2 Röhrchen eines Stammes, die zur gegenseitigen Kontrolle dienten. Die erste Versuchsserie wurde dabei aus 24-stündiger Bouillonkultur in die Lackmusmannitlösung mittels Normalöse überführt. Das Ergebnis nach Stammnummern ist in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle 3.

Vollständige Koagulation aus Bouillon nach Stunden																								
48	60	72	96	108	120	132	144	156	168	180	192	204	216	228	240	252	264	276	288	300	312	324	336	
19	.	.	62	64	5	10	16	28	20	6	—	16	6	50	.	.	54	.	.	15	27	27	.	Wegen Pla mangels Brutschra zu dieser Z abgebroche obwohl st noch ei Reihe unko gulierteRöh chen übr waren
19	.	.	2	64	5	58	57	28	58	17	.	16	6	37	.	.	53	.	.	15	28	.	.	
.	.	.	.	56	4	1	20	18	58	17	.	72	60	74	.	.	.	.	.	23	6	.	.	
.	.	.	.	7	4	1	49	18	11	8	.	.	29	71	.	.	.	.	.	29	37	.	.	
.	.	.	.	3	63	59	49	22	8	13	.	.	6	71	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	3	63	59	50	22	.	.	.	.	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	62	61	24	21	.	.	.	.	50	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	56	61	24	21	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	57	53	7	52	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	24	53	74	52	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	9	24	.	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	49	.	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	49	.	50	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	10	.	11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	7	.	9	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	72	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	

Das außerordentlich auffallende Ergebnis dieser ersten Untersuchungen gipfelte, wie die Tabelle ergibt, darin, daß bei Verwendung verschiedener Stämme und Beimpfung des **Barsiekow**-Mannits aus Bouillon unter den denkbar gleichmäßigsten Bedingungen außerordentliche Schwankungen in der Zeit bis zum Eintreten der Koagulation festgestellt wurden: während der Stamm mit schnellster Koagulation nach 48 Stunden diesen Grad erreicht hatte, war Stamm 27 erst nach 312 Stunden so weit, also 12 Tage nach der Beimpfung. Eine geringe Anzahl von Röhrchen war auch dann noch unkoaguliert; doch wurden die Versuche nach dieser Zeit wegen Platzmangels im Brutschrank stets abgebrochen. Ungleichheiten zwischen den beiden Vergleichsröhrchen waren keine Seltenheit. Schon bei dieser ersten Versuchsreihe war aber bei verschiedenen Stämmen fast die ganze Variationsbreite, welche die Literatur für die Koagulation der Paratyphus A-Bazillen in **Barsiekow**-Mannit angibt, vorhanden. Das Ergebnis stimmt mit den von **Koehler** gewonnenen Resultaten ungefähr überein, welcher bei aus Bouillon in Mannit **Barsiekow** verimpften A-Stämmen eine Zeit von 2—25 Tagen bis zur Koagulation verstreichen sah.

4. Verimpfung aus Agar.

Da nun aber anzunehmen war, daß die verschiedenen Autoren oftmals nicht aus Bouillon, sondern von Agar aus die Beimpfungen vorgenommen hatten, so ging ich dazu über, die Beimpfung auch auf diesem Wege auszuführen. Ich verwandte stets 24-stündige Schiefagarkultur. Das Ergebnis ist in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle 4.

Vollständige Koagulation von Agar nach Stunden							
12	24	36	48	60	72	84	96
.	.	18	21	.	15	24	22
.	.	18	12	.	15	23	22
.	.	3	.	.	14	.	23
.	.	3	.	.	13	.	24
.	.	19	.	.	12	.	16
.	.	.	.	.	20	.	17
.	.	.	.	.	20	.	17
.	.	.	.	.	21	.	14
.	.	.	.	.	25	.	13

Auch hier verhalten sich die verwendeten Stämme recht verschieden, doch ist die Koagulation im allgemeinen viel schneller erreicht, als aus Bouillon. Dabei aber fielen oft recht erhebliche und relativ größere Unregelmäßigkeiten als bei Verimpfung aus Bouillon zwischen den beiden verwandten Kontrollröhrchen auf. Um hier weiter zum Ziele zu kommen, benutzte ich dann Serien von 3 oder 5 Röhrchen von jedem Stamme, immer aber mit dem Ergebnis, daß innerhalb eines Stammes erhebliche Differenzen in dem zeitlichen Auftreten der Koagulation zu verzeichnen waren.

a) Variabilität der Koagulationsdauer.

Um die Variationsbreite in den einzelnen Stämmen einigermaßen genauer festlegen zu können, nahm ich dann pro Einzelstamm noch mehr Versuchsröhrchen, in den verschiedenen Fällen 20—30. Und um einen Vergleich mit der Koagulationsfähigkeit von Typhus- und Paratyphus B-Bazillen zu erhalten, verwandte ich auch solche Stämme zur Kontrolle mit. Das Ergebnis ist in der folgenden Tabelle (S. 106) niedergelegt:

Diese Tabelle lehrt nun eine Reihe von bemerkenswerten Tatsachen. Beginnen wir mit Paratyphus A. Die Zeit bis zum Eintritt vollständiger Koagulation nach Verimpfung einer Normalöse 24-stündiger Agarkultur schwankt bei den von mir benutzten Stämmen zwischen 36 und 156 Stunden. Innerhalb ein und desselben Stammes ist die Variationsbreite in der Regel geringer. Am geringsten ist sie offenbar bei den schnell koagulierenden Stämmen A 1 und A 19. Erheblich größer bei den langsam koagulierenden A 6 und A 71. Sehr auffallend sind auf jeden Fall die verschiedenen Stämme mit verschiedener durchschnittlicher Koagulationsgeschwindigkeit.

Sehen wir uns dann weiter bei Typhus und Paratyphus B um, so finden wir zweifellos auch da Verschiedenheiten. Sofort aber fällt auf, daß Paratyphus B im Durchschnitt viel geringere Zeit bis zur Koagulation benötigt, als Paratyphus A und eine zumeist bedeutend geringere Variabilitätsbreite besitzt, Typhus dagegen mit sehr großer Variabilitätsbreite im Durchschnitt längere Zeit bis zur Koagulation benötigt als Paratyphus A. Auffallend sind die Stämme B 1 und B 7[1], welche erheblich viel längere Zeit als die übrigen B-Stämme zur Koagulation brauchten. Die verschiedene, sofort sich aufdrängende Variationsbreite bei Paratyphus B und Typhusbazillen wird später zu erklären sein.

Tabelle 5.

Stamm	Von Schiefagar koaguliert nach Stunden																					
	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120	132	144	156	168	180	192	204	216	228	240	252	264
	Anzahl der Röhrchen																					
B_1	.	.	.	1	12	12	1	8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
B_2	.	11	9	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
B_4	.	28	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
B_5	.	20	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
B_6	.	20	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
B_7	.	.	.	5	2	5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
B_8	.	17	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
B_{10}	.	18	6	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A_1	.	.	.	9	8	8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A_2	.	.	.	2	7	10	3	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A_3	.	.	.	.	.	6	1	8	3	2	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A_4	.	.	.	.	.	2	3	7	4	6	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A_6	.	.	.	.	2	6	5	8	2	2	0	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A_{19}	.	.	12	10	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A_{24}	.	.	.	.	1	5	3	9	1	1	5	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A_{56}	.	.	.	.	2	5	7	8	1	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A_{67}	.	.	.	4	3	6	2	9	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A_{71}	.	.	.	.	1	1	3	12	3	1	2	0	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.
T_1	.	.	.	1	9	2	0	3	.	1	1	1	.	1	2	2	1	1	.	.	.	.
T_2	.	.	.	.	5	5	0	3	1	3	1	1	2	.	.	.	1	1	.	.	.	.
T_3	.	.	.	.	.	3	0	3	1	3	3	3	1	3	2	1	1	.	.	.	.	.
T_5	.	.	.	.	1	.	.	.	1	3	.	1	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.
T_{10}	.	.	.	3	1	.	.	1	1	2	.	1	1	3	1	1	2	2	2	1	2	1

Ehe wir aber auf diese Daten näher eingehen, wollen wir die erhaltenen Ergebnisse einmal mit den Literaturangaben vergleichen. Vergleichen wir die Tabelle 2 mit unseren Ergebnissen, so wird ohne weiteres klar, daß sich alle Differenzen in der Literatur auch bei unseren Stämmen wiederfinden, ja daß ziemlich erhebliche Differenzen der Literatur schon durch Differenzen innerhalb eines und desselben Stammes, vor allem, wenn man den Gegensatz zwischen aus Bouillon und von Agar verimpften Stämmen berücksichtigt, erklärt sind. Nehmen wir an, Ditthorn habe einen Stamm wie A 19 von Agar auf Barsiekow verimpft, Schroeter und Gutjahr aber einen Stamm wie A 71 gar aus Bouillon, so sind die Differenzen beider Ergebnisse völlig geklärt. Wir sahen weiter, daß nach Hetsch Typhusbazillen nach 24 Stunden Barsiekow-Mannit nicht koagulieren sollen, Paratyphus A und B hingegen zu dieser Zeit schon Koagulation hervorrufen. Nach Baermann und Eckersdorff sollen im Gegensatz dazu Typhus- und Paratyphus B-Bazillen koagulieren, Paratyphus A es aber nicht zur Koagulation bringen.

---

[1] Dieselben erwiesen sich in jeder Weise als typische Paratyphus B-Stämme. Agglutination bis zum Endtiter, anfängliche Rötung, nach 3—4 Tagen Bläuung der Lackmusmolke, Gasbildung und Fluoreszenz in Neutralrottraubenzuckeragar, typisches Verhalten in Bielings Xylosenährboden.

Auch für diese Widersprüche ist ein Teil der Gründe schon jetzt offenbar. Die Variationsbreite in der Zeit, welche bis zur Koagulation verstreicht, ist breit und transgressiv. Wenn nun mit einzelnen Röhrchen, wie das in der Regel der Fall ist, gearbeitet wird, so leuchtet es ohne weiteres ein, daß man an verschiedenen Stellen für die einzelnen Formen zu verschiedenen Resultaten gelangen muß. Hat Hetsch Typhusstamm T 3 und Paratyphusstamm A 19, so ist die Wahrscheinlichkeit groß, daß er bei Heranziehung einzelner Röhrchen zur Diagnose das Resultat erlangen wird: A koaguliert innerhalb 48 Stunden, Ty tut das nicht. Hatten aber Baermann und Eckersdorff den Stamm T 1 und A 71, so können sie wohl, wenn sie auf das Ergebnis 3 Tage warten, zu ihrem Resultate kommen. Wir werden jedoch bald sehen, daß bei diesen Differenzen, wobei jetzt ganz abgesehen werden soll von abweichender Herstellung der Barsiekow-Lösung, auf die ich schon weiter oben aufmerksam machte, wahrscheinlich noch andere Gründe maßgebend sind. Wenn aber Ditthorn am Ende seiner Untersuchungen zu dem Ergebnis kommt, daß das Verhalten von Typhus- und Paratyphusbazillen im Barsiekow-Mannitnährboden ein ganz unregelmäßiges und wenig konstantes ist, so ist das zweifellos wieder zu viel gesagt. Es geht aus unserer Tabelle schon die klare Regel hervor, daß der Mittelwert der Zeit bis zum Eintreten der Koagulation in Barsiekow-Mannit von Paratyphus B über Paratyphus A zu Typhus ganz gesetzmäßig steigt.

Doch sehen wir uns die hier vorliegenden Verhältnisse noch etwas näher an:

b) Koagulationsdauer bei verschiedenen Stämmen.

In erster Linie interessiert die Frage: Bleiben sich die einzelnen Stämme in ihren Differenzen unter gleichen Bedingungen gleich, oder wurden die wechselnden Mittelwerte etwa doch nur durch zufällige Einflüsse zustande gebracht? Ich habe zu diesem Zwecke eine Reihe von Stämmen wiederholt untersucht und gebe die Ergebnisse dieser Untersuchungen in der folgenden Tabelle wieder:

Tabelle 6.

Aus Agar koagulierten nach												
Stamm	Versuchsdatum	Stunden										
		12	24	36	48	60	72	84	96	108	120	132
A_{55}	25. Mai 1916	.	.	.	10	13	2	.	.	.	.	.
A_{55}	23. Nov. 1916	.	4	8	8	.	.	.	.	.	.	.
A_3	10. Jan. 1916	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.
A_3	5. Mai 1916	.	.	.	.	.	6	1	8	2	2	2
A_3	23. Nov. 1916	.	.	.	.	.	6	12	2	.	.	.
B_1	10. Jan. 1916	.	.	.	.	4	.	.	1	.	.	.
B_1	20. April 1916	.	.	.	1	12	12	1	3	.	.	.
B_1	15. Jan. 1917	.	.	.	9	3	8	.	.	.	.	.
B_2	10. Jan. 1916	.	5	.	.	.	.	.	.	.	.	.
B_2	20. Aug. 1916	.	20	.	.	.	.	.	.	.	—	.

Es ist also durchaus nicht mehr zweifelhaft, daß beispielsweise A 3 durch die ganze Untersuchungsperiode langsam koaguliert, A 55 hingegen schnell. Entsprechendes gilt für B 1, B 2 A 19, etc.

Es ist nun bemerkenswert, daß Köhler, völlig unabhängig von mir, ebenfalls konstante Unterschiede in der Reaktionsgeschwindigkeit bei Paratyphus-A-Stämmen in Mannit Barsiekow, wie übrigens auch in Traubenzucker und Maltose Barsiekow, feststellen konnte. Die Hauptmenge seiner untersuchten A-Stämme koagulierte nämlich Mannit Barsiekow innerhalb 5—25 Tagen, während ein aus dem Blut isolierter und ein Laboratoriumsstamm schneller, und zwar der erste innerhalb 2—4 Tagen, der zweite zwischen 2 und 5 Tagen koagulierte. Es ist bei den Reaktionszeiten daran zu denken, daß Köhler aus Bouillon in Mannit Barsiekow impfte, ich selbst aber in den hier besprochenen Versuchen aus Agar.

Sehen wir nun unsere früh koagulierenden Stämme an, so ist sehr auffällig, daß A 19 und A 55, meine am schnellsten koagulierenden Stämme, beides Laboratoriumsstämme sind. Der eine ist ein Berliner, der andere ein Freiburger Laboratoriumsstamm. Es ist hiernach wohl kaum zu bezweifeln, daß langdauernde Ernährungseinflüsse modifizierend in die Reaktionsgeschwindigkeit der Paratyphus A-Bakterien eingreifen. Die Köhlerschen Untersuchungen berichten aber neben einem Laboratoriumsstamm auch von einem aus dem Blut frisch isolierten Stamm, welcher besonders schnell koaguliert. Hier bleibt es fraglich, welche Einflüsse die größere Reaktionsgeschwindigkeit auslösten. Bei dem so sehr abweichenden Stamm B 1 liegt auch die Möglichkeit vor, daß äußere Bedingungen modifizierend in den Reaktionsablauf eingegriffen haben, indem dieser Stamm aus Eiter isoliert wurde, während die übrigen B-Stämme sämtlich aus Stuhl erzogen wurden.

Wenn wir aber diese Ergebnisse wieder mit der obigen Literaturzusammenstellung vergleichen, so erhalten wir auch hier wieder eine weitere Erklärung. Wenn Baermann und Eckersdorff Typhus und Paratyphus B Mannit Barsiekow koagulieren finden, Paratyphus A aber nicht, so liegt der Verdacht nahe, daß sie die bei der von ihnen beobachteten Epidemie frisch isolierten Paratyphus A-Kulturen mit Laboratoriumsstämmen von Typhus und Paratyphus B verglichen haben. Die sonst ceteris paribus langsamer koagulierenden Typhusstämme koagulierten als Laboratoriumsstämme dann offenbar schneller, als der frisch isolierte Paratyphus A.

c) Differenzen innerhalb derselben Stämme.

Es fragt sich aber nun weiter, worauf beruhen die Differenzen innerhalb der einzelnen Stämme? Da ich stets dieselben Nutrose- und Mannitpräparate benutzte, zudem für jeden Versuch die Nährlösung gemeinsam hergestellt wurde, so konnte der Grund nicht in irgendwelchen Differenzen derselben gesucht werden. Ich dachte dann an verschiedenen Sauerstoffgehalt verschieden weiter Röhrchen und andere Fehlerquellen, doch konnten bei Versuchen in dieser Richtung keine Anhaltspunkte gewonnen werden. Neben unkontrollierbaren Differenzen konnten dann nur noch die Menge der verwandten Nährlösung und die Menge des eingeimpften Materials eine Rolle spielen. Ob ich, bei gleichbleibender eingeimpfter Menge, mehr oder weniger Nährlösung verwendete, spielt allerdings eine bemerkenswerte Rolle. Ich führe zur Illustrierung dieser Frage den folgenden Versuch an:

Am 19. März wurde aus 24-stündiger Bouillonkultur je eine Normalöse auf je 5 verschiedene Mengen Mannit Barsiekow enthaltende Röhrchen verimpft. Von der Nährlösung kamen bei a 2 ccm, bei b 4 ccm, bei c 6 ccm zur Verwendung. Die erste Rötung trat ein nach

Tabelle 7.

24	36	48	60	72 Stunden
bei a	a	b	a	c
a	b	b	c	.
a	b	b	c	.
.	.	.	c	.
.	.	.	c	.

Vollständige Koagulation trat ein nach:

Tabelle 8.

108	120	132	144	156	168	180	192	204	216 Std.	später
bei a	a	c	c	c	b	.	.	.	c	c
.	.	a	b	a	.	.	.	.	.	.
.	.	a	b	.	.	.	.	.	.	.
.	.	b	b	.	.	.	.	.	.	.

Die a-Röhrchen mit geringer Menge Nährlösung wurden also im Durchschnitt zuerst gerötet und koaguliert, die c-Röhrchen mit der größten Menge Nährlösung brauchten zu beiden am längsten. Es ist also nicht zu bezweifeln, daß die Menge der zu den Versuchen verwendeten Nährlösung eine erhebliche Rolle bei dem Resultate spielt. Naturgemäß werden die verschiedenen Autoren nicht alle gleiche Mengen von Nährlösung benutzt haben, so daß auch hier weitere Gründe für die verschiedenen Angaben in der Literatur zu suchen sind. Für den einzelnen Versuch ist diese Quelle aber natürlich leicht auszuschalten. Ich habe, wie oben mitgeteilt, stets 4 ccm Mannit Barsiekow, mit der Pipette abgemessen, benutzt.

So bleibt nun nur noch die Menge des verimpften Materials zu berücksichtigen. In welchem Umfange dieser Faktor den Ausfall des Resultates beeinflußt, zeigen die folgenden Versuche:

Tabelle 9.

Es wurden am 28. Juni von Schiefagar Mannit-Barsiekow-Röhrchen von A 3 beimpft: a_1 mit 1 Oese, a_2 mit 2 Oesen. Es koagulierten nach

	24	36	48	60	72	84	96	108	120	132 Std.	
bei a_1	.	.	2	1	2	6	8	2	1	2	25
a_2	1	5	8	1	1	.	.	.	.	.	15

Tabelle 10.

Es wurden am 10. November von Schiefagar je 25 Mannit-Barsiekow-Röhrchen mit A 78 beimpft, Reihe I mit $^1/_4$—$^1/_5$ Oese, Reihe II mit einer dickvollen Oese. Es koagulieren nach:

48	60	72	84	96	108	120	132	144	156	168	180	192	204	216	228	240	252	264	276	288	300 Std.
II	II	II	II	II	.	.	.	II	II	I	I	I	I	.	I	.	I	.	.	.	I
II	II	II	II	II	.	.	.	I	II	I	I	I	I	.	I	.	.	.	.	.	.
II	II	II	II	II	.	.	.	I	I	I	.	.	I	.	I	.	.	.	.	.	.
	II	II	II	.	.	.	.	.	I	I	.	.	I	.	I	.	.	.	.	.	.
	.	II	II	.	.	.	.	.	I	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	.	II	.	.	.	.	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	.	II	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Die beiden Versuche lassen also einwandfrei erkennen, daß größere Differenzen in der Menge des verimpften Materials ganz außerordentliche Verschiebungen in der bis zur Koagulation verstreichenden Zeit nach sich ziehen. Um die Sachen etwas eingehender zu klären, habe ich dann weiter die eingebrachten Mengen mit der analytischen Wage abgewogen. Dieser Versuch führte zu folgendem Ergebnis:

Vom Stamm A 6 wurden am 30. Nov. aus Agar in Mannit Barsiekow die folgenden Kulturmengen gebracht:

Tabelle 11.

	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	2,1	mg
Es kam zur Koagulation nach	72	72	72	60	36	30	Stunden
	.	.	60	60	.	.	

Man erkennt aus dieser Tabelle, daß eine Differenz von 0,2 mg verimpften Materials Schiefagarkultur nach oben und unten bei unserem Stamm A 6 die Koagulationszeit um etwa einen und einen halben Tag verschieben kann. Es ist also kein Zweifel, da eine auf so geringe Mengen genaue Verimpfung von Material mit der Oese ohne Wägung ausgeschlossen ist, daß die Varianten in unseren Versuchen mit sonst übereinstimmenden Bedingungen zum größten Teil auf diese Differenzen in der Menge des verimpften Materials zurückzuführen sind. Köhler kommt für die von ihm untersuchten A-Stämme zu entsprechendem Resultate.

Es ist aber auch nicht zu bezweifeln, daß Differenzen in der Menge des verimpften Materials zu einem großen Teil die Ursache sind, daß in der Literatur so mannigfache Angaben über die Reaktion in Mannit Barsiekow sich finden. Ich benutzte zu meinen Versuchen stets die 1 mg-Oese, also die halbe Normalöse. In vielen Fällen wird man die Normal-, also die 2 mg-Oese benutzt haben. Anscheinend hat Ditthorn eine ziemlich große Oese benutzt, da er sehr schnelle Koagulationen erzielte. Sehr oft wird aber die Normalöse nur ungefähr hergestellt worden sein, oder aber das Bestreben wird in einzelnen Fällen zu etwas verschiedenem Erfolg geführt haben. Daraus erklären sich aber dann, bei der Empfindlichkeit der Reaktion, leicht die erheblichen Differenzen in den Resultaten.

Nun hat aber Köhler noch einige weitere Untersuchungen angestellt, die die meinigen ergänzen und auf welche ich infolgedessen hier noch kurz zurückkommen möchte. Nachdem gezeigt ist, daß die verschiedene Menge des verimpften Materials auf das Ergebnis einen bestimmenden Einfluß ausübt, erhob sich die Frage, ob die Differenzen in der Koagulationsgeschwindigkeit verschiedener A-Stämme auf einer verschiedenen chemischen Energie des einzelnen Bakteriums beruhe, oder einfach darauf, daß sich die Bakterien des schneller koagulierenden Stammes schneller teilen und so schneller eine größere Menge Säure bildender Bakterien in den Versuchsröhrchen vorhanden sind. Durch Zählversuche konnte Köhler zeigen, daß letzteres der Fall ist. Wenngleich ich solche Zählversuche mit meinem Material nicht ausgeführt habe, so ist mir nicht zweifelhaft, daß auch hier dieselben Gründe für die verschiedene Reaktionsgeschwindigkeit vorliegen. Es war beispielsweise bei Vergleich von Stamm A 55 und A 3 schon makroskopisch deutlich, daß A 55 in der gleichen Zeit viel dichtere Rasen bildete als A 3. Zur Beimpfung derselben Anzahl von Versuchsröhrchen wurden von A 3 beispielsweise 3, von A 55 nur 2 Schiefagarröhrchen benötigt. Bei Beimpfung gleich hergestellter Nährlösungen mit wirklich gleichen Mengen Kultur werden also die Differenzen der Säurebildung in erster Linie auf verschiedene Wachstumsgeschwindigkeit verschiedener Stämme zurückzuführen sein.

Dies erklärt nun wohl auch die in der Tabelle 5 sofort auffallende, sehr verschiedene Variationsbreite. Bei den am schnellsten koagulierenden Stämmen B 2 bis B 6, B 8, B 10 ist die Variationsbreite sehr gering, bei dem langsamer koagulierenden B 1 ist sie viel breiter. Dasselbe ist bei Paratyphus A der Fall. Die schnell koagulierenden Stämme A 1 und A 19 haben eine geringe, die langsamer koagulierenden übrigen Stämme eine größere Variationsbreite. Typhus aber, der noch langsamer koaguliert, hat eine noch größere Variationsbreite. Wenn nun die schnelle, bzw. langsame Koagulation auf der verschiedenen Geschwindigkeit des Bakterienwachstums beruht, so ist leicht einzusehen, daß bei schnellem Wachstum die Stufe der Säurebildung, bei welcher Koagulation stattfindet, sehr schnell eintritt. Je langsamer aber das Wachstum vonstatten geht, um so mehr werden geringe Differenzen bei der Verimpfung auf die Zeit der Koagulation einwirken, um so weiter werden die Koagulationstermine der einzelnen Versuchsröhrchen auseinanderliegen, und um so größer wird damit die Variationsbreite werden.

Nun aber erhebt sich die weitere Frage, als was die verschiedene Wachstumsgeschwindigkeit der einzelnen Stämme aufzufassen ist, oder welcher Variationswert ihnen zukommt. So wenig es mir in dieser Richtung bisher möglich ist, irgendeinen sicheren Aufschluß zu erteilen, so ist es doch nicht unwichtig, daß sowohl meine recht verschieden schnell koagulierenden Stämme A 1 bis A 4 und A 6 ein und derselben einheitlichen, auf einen Bazillenträger zurückgehenden Epidemie entstammen und daß sogar die verschieden schnell koagulierenden Stämme A 1 und A 6 zu verschiedenen Zeiten aus dem Stuhl ein und desselben Bacillenträgers isoliert wurden. Dabei liegt der Mittelwert der Koagulation nach Verimpfung aus Agar bei A 1 in dem angeführten Versuch auf 60, der von A 6 auf ca. 90 Stunden; bei Verimpfung aus Bouillon der von A 1 auf 132, von A 6 auf ca. 204 Stunden (vgl. Tab. 5). Ganz ebenso waren auch die Differenzen in der Koagulationsgeschwindigkeit für Paratyphus A in Mannit Barsiekow von Köhler bei verschiedenen zu einer Epidemie gehörigen Stämmen gefunden worden. Wenn auch etwas verschoben, so haben die Stämme aber auch bei monatelanger künstlicher Kultur ihre gegenseitigen Differenzen beibehalten (vgl. Tab. 6). Vielleicht neigen sie nach längerer Kultur zu etwas schnellerer Koagulation.

Die Frage aber, ob es sich hier um genotypisch verschiedene Stämme, oder etwa um Dauermodifikationen genotypisch gleich veranlagter Stämme handelt, ist derzeit nicht zu lösen (vgl. dazu meinen Aufsatz über Bakterienmutationen, Allogonie, Klonumbildungen, dieses Centralbl, Bd. 77. 1916).

5. Schlußfolgerungen für die Laboratoriumspraxis.

Nach allen vorausgegangenen Versuchen wird der Schluß nicht zu bezweifeln sein: Im gewöhnlichen Laboratoriumsbetrieb ist der Mannit-Barsiekow zur Diagnose zwischen den verschiedenen Typhus- und Paratyphusbazillen-Formen völlig unbrauchbar. Er sollte hier so schnell als irgend möglich aus dem Gebrauch, wie aus den Lehr- und Handbüchern verschwinden.

Und das ist durchaus kein Schaden. Denn wir haben einmal in der Agglutination ein gerade bei Paratyphus A beispielsweise sehr spezifisches diagnostisches Mittel, dann aber bildet die Lackmusmolke ein für den Geübten sehr feines Reagens, und schließlich sind die von

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

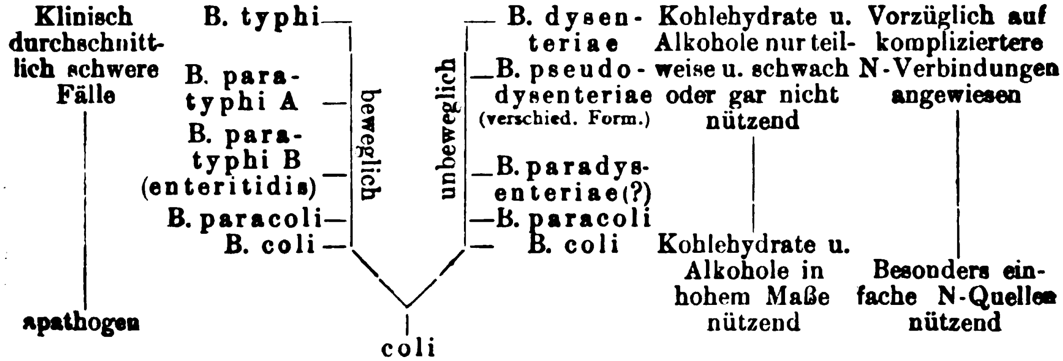
Bieling jüngst vorgeschlagenen Differenzierungsmittel zwischen Paratyphus A und B ganz ausgezeichnet. Während die Brauchbarkeit der Galaktose von Köhler nachgeprüft wurde, konnte ich die Xylose bei einer größeren Reihe von Stämmen verwenden und fand stets die von Bieling beschriebenen Unterschiede deutlich ausgeprägt. Daß bei Verwendung eines noch umfangreicheren Materials auch hier Uebergänge und Zwischenformen zu finden sein werden, ist kaum zu bezweifeln und liegt besonders nach den eingangs erwähnten Angaben Scherns recht nahe. Die Klärung dieser Formen aber durch Verwendung von Barsiekow-Mannit erscheint wenigstens im normalen Laboratoriumsbetriebe ausgeschlossen.

6. Schlußfolgerungen theoretischer Art.

So klar also nun die Unmöglichkeit einer weiteren, wie wir sahen, bisher leider nur zu üblichen, unkritischen Wertung und diagnostischen Verwendung der Barsiekow-Mannit-Lösung ist, so ist doch andererseits einer sorgfältigen, mit allen Mitteln der Kritik ausgeführten Wertung dieser und ähnlicher Nährlösungen sowohl praktisch als theoretisch ein erhebliches Interesse nicht abzusprechen. Ich möchte diese Gesichtspunkte hier nur kurz streifen und behalte mir vor, dieselben nach weiter ausgedehnteren und auf quantitativ chemischer Basis stehenden Untersuchungen auf breiterer Grundlage darzustellen.

Die abnehmende Gärfähigkeit für Kohlehydrate und Alkohole von Coli- bzw. Typhus- und Dysenteriebazillen ist ja genugsam bekannt. Sie wurde beispielsweise von Loeffler (1907) zur Grundlage einer Einteilung der Typhus-Coli-Ruhrgruppe benützt. Mit Recht betonen allerdings Lehmann und Neumann (Bakt. 1912. S. 259), daß durch diese Einteilung die unbeweglichen Dysenterie- mit den beweglichen Typhusbazillen vereinigt werden.

Von anderen Seiten ist aber weiterhin der Verdacht ausgesprochen worden, daß das Gärvermögen für Kohlehydrate und Alkohole in gewissem Verhältnis zur Pathogenität der Bakterien steht. Es ist ja gerade innerhalb der Coli-Ruhr-Typhusgruppe ein auffallendes umgekehrtes Verhältnis zwischen Vergärungsfähigkeit gegenüber Zucker bzw. Alkoholen und Pathogenität. Die folgende kleine Uebersicht wird das sofort anschaulich machen; in derselben ist Gärfähigkeit und Beweglichkeit in natürlicher Weise Rechnung getragen. Während bei beweglichen wie unbeweglichen anscheinend eine ungefähr umgekehrte Proportionalität der Menschenpathogenität zur Nützungsmöglichkeit gegenüber Kohlehydraten und Alkoholen besteht, scheint die Fähigkeit, stickstoffhaltige Körper zu nützen, mit dieser Pathogenität mehr oder weniger direkt parallel zu gehen.


Klinisch durchschnittlich schwere Fälle
apathogen
B. typhi
B. paratyphi A
B. paratyphi B (enteritidis)
B. paracoli
B. coli
beweglich
unbeweglich
coli
B. dysenteriae
B. pseudodysenteriae (verschied. Form.)
B. paradysenteriae (?)
B. paracoli
B. coli
Kohlehydrate u. Alkohole nur teilweise u. schwach oder gar nicht nützend
Kohlehydrate u. Alkohole in hohem Maße nützend
Vorzüglich auf kompliziertere N-Verbindungen angewiesen
Besonders einfache N-Quellen nützend

Wenn ich auch in einer solchen Uebersicht vorläufig nichts anderes sehe als eine Arbeitshypothese, so möchte es mir doch scheinen, als würde sie uns durch das Gewirr von Paratyphusformen, Ruhrformen, Coli-Bazillosen etc. trotz aller Variabilität im einzelnen, oder gerade auf Grund derselben, bis zu einem gewissen Grade doch eher hindurchleiten können, als die heutzutage übliche, etwas einseitige Behandlung dieser Formen vom serologischen Standpunkte. Auch dürfte man durch Wertung dieser biologischen Fähigkeiten vielleicht nach und nach Daten des pathogenen Verhaltens der verschiedenen Bakterien zu klären imstande sein. Nur wird man wohl gut daran tun, auch in die physiologisch-biologischen Untersuchungsmethoden in Zukunft in Verbindung mit exakter klinischer Untersuchung mehr quantitative variationsstatistische Methodik einzuführen, wie das quantitative Arbeiten ja auf dem Gebiete der serologischen Arbeiten schon üblich ist. Das wird vor allem auch für die Ruhrdiagnostik gelten, bez. deren ich mit Kruse einig bin, daß die bisherige Einteilung nach Gärverhältnissen unhaltbar ist.

Literatur.

Barsiekow, Beiträge zur Differentialdiagnose des Typhusbacillus. (Wien. klin. Rundsch. 1901. No. 44.)

Baermann u. **Eckersdorff**, Berl. klin. Wochenschr. 1909. p. 1802.

Bieling, Zur Verbreitungsweise und bakteriologischen Diagnostik der Paratyphus A-Bacillen. (Deutsch. med. Wochschr. 1916. No. 18.)

Ditthorn, Ueber das Verhalten der Typhus- und typhusähnlichen Bacillen (Paratyphus A, B und Enteritis Gärtner) zu verschiedenen Zuckerarten und diesen nahestehenden mehratomigen Alkoholen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. p. 497.)

Frenzel, Atypischer Paratyphus A mit letalem Ausgange. (Deutsch. med. Wochschr. No. 32. 1916. S. 974.)

Hetsch, Weiteres zur kulturellen Differenzierung der Ruhrbacillen gegenüber ruhrähnlichen Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 500.)

Hübener, Fleischvergiftungen und Paratyphusinfektionen. 1910.

Köhler, Bakteriologisches über Paratyphus A-Erkrankungen im Felde. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. p 421.)

Kolle u. **Hetsch**, Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten. 5. Aufl. Bd. 1. 1916.

Krencker, Zur Biologie der Typhus-Coli-Gruppe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 14.)

Lehmann, **Mäulen** u. **Schricker**, Ueber einen Fall epidemischen Auftretens des Paratyphus A. (Zeitschr. f. med. Klin. Bd. 82. 1915. H. 1 u. 2.)

Loeffler, Bakt. Centralbl. Ref. Bd. 41. 1907. S. 229.

Raubitschek und **Natonek**, Ueber Unterschiede in den verschiedenen Eigenschaften der Typhusbacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. S. 241.)

Schern, Ueber das Verhalten verschiedener Stämme des Bacillus paratyphi B und des B. enteritidis Gärtner in Arabinose- und Xyloselackmusbouillon. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 33. 1910.)

Schmitz u. **Kirschner**, Beiträge zur Klinik und Bakteriologie der Paratyphus A-Bazillen. (München. med. Wochenschr. 1916. No. 1.)

Schottmüller, in **Mohr** u. **Staehelin**, Handb. d. inn. Med. 1911.

Schroeter u. **Gutjahr**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 59. 1911. p. 577.

Segin, Ueber die Einwirkung der Bakterien auf verschiedene Zuckerarten. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 34. p. 202.)

Svestka, Beitrag zur Epidemiologie der Paratyphus A-Infektion. (Wien. klin. Wochenschr. Bd. 29. 1916. No. 16.)

Uhlenhuth u. **Hübener**, Paratyphus A. (In **Kolle-Wassermann**, Handb. d. pathog. Mikroorganism. 1913.)

Weber u. **Haendel**, Paratyphus und paratyphusähnliche Bakterien mit besonderer Berücksichtigung ihrer Verbreitung in der Außenwelt und ihrer Beziehungen zu Mensch und Tier. (Berlin. klin. Wochenschr. Bd. 49. 1912. p. 2205.)

(G. C.)

Nachdruck verboten.

Zur Praxis und Theorie des Malachitgrünnährbodenverfahrens für den Nachweis von Typhus- und Paratyphus-Bakterien im Stuhl. Vergleich dieses Verfahrens mit dem Petrolätherverfahren.

[Aus dem bakteriologischen Feldlaboratorium einer Armee.]

Von **Felix Knorre**, kommandiert zum Laboratorium [1]).

Mit 5 Kurven im Text.

Die Einführung einer neuen Methode in eine Disziplin, die bereits Methoden aufweist, welche dasselbe Ziel verfolgen, kann natürlich nur dann empfohlen werden, wenn die neue Methode unbezweifelbare Vorzüge der alten gegenüber aufweist, zum mindesten aber ihr gleichwertig ist.

So halten wir es für gegeben, das von Bierast [2]) ausgearbeitete und von Jaffé und Hall [3]) nachgeprüfte und empfohlene Petrolätherverfahren zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbakterien im Stuhl dem dem nämlichen Zwecke dienenden und schon vorher existierenden Malachitgrünnährbodenverfahren vergleichend gegenüberzustellen.

Wenn das Malachitgrünnährbodenverfahren in letzter Zeit an Ansehen verloren zu haben scheint, so daß es Hall in seiner Abhandlung: „Ueber die Bedeutung des Petroläthers zum Nachweis von Typhus und Paratyphusbakterien im Stuhl“ sogar vollständig ignoriert und in der Bierastschen Methode die „langentbehrte spezifische Untersuchungsmethode“ zum Nachweis der Typhus- und Paratyphusbakterien in den Faeces vermutet, so ist dieses wohl auf zwei Momente zurückzuführen.

Einmal erfordert die Herstellung des fehlerlosen Malachitgrünnährbodens eine unvergleichlich größere Sorgfalt, als die Herstellung der übrigen gebräuchlichen Nährböden und Nährlösungen. Letztere könnte man hinsichtlich ihrer Anwendung als „qualitativ“ spezifisch, den Malachitgrünnährboden jedoch als „quantitativ“ spezifisch bezeichnen.

Prozentuale Fehler, welche bei der Anfertigung der übrigen Nährböden noch zulässig sind, würden beim Ansetzen des Malachitgrünnährbodens diesen vollständig unbrauchbar machen.

Einen zweiten Grund für das Sinken des Ansehens des Malachitgrünnährbodens sehen wir darin, daß der fertig gelieferte Trocken-Malachitgrünnährboden, im Gegensatz zu den anderen Trockenpräparaten, vollständig versagt, weil der äußerst sorgfältig abzustimmende Malachitgrünnährboden eine so rohe Prozedur, wie das Eintrocknen und nachträgliche Aufweichen und Erhitzen, unmöglich vertragen kann.

---

[1]) Herrn Stabsarzt Dr. Fürst, dem ich die Anregung zu dieser Arbeit verdanke und der mich bei der Ausführung der Arbeit in mannigfacher Weise unterstützt hat, danke ich an dieser Stelle ergebenst. — Ich weise an dieser Stelle ausdrücklich darauf hin, daß mir von der einschlägigen Literatur hier im Felde fast nichts zur Verfügung stand.

[2]) Ueber das Bierastsche Petrolätherverfahren zum Nachweis der Typhus- und Paratyphuskeime im Stuhl. (Berlin. klin. Wochenschr 1916. No. 20.) [Sammelseparat.]

[3]) Hall, Untersuchungen über die Bedeutung des Petroläthers für den Nachweis von Typhus- und Paratyphusbakterien im Stuhl. (Berlin. klin. Wochenschr.)

Gerade das vollständige Versagen des Malachitgrünnährboden-Trockenpräparates führte uns schon im Winter 1915/16 zwecks anzuwendender Korrektur darauf, die Theorie und Praxis des Malachitgrünnährbodenverfahrens eingehend zu studieren.

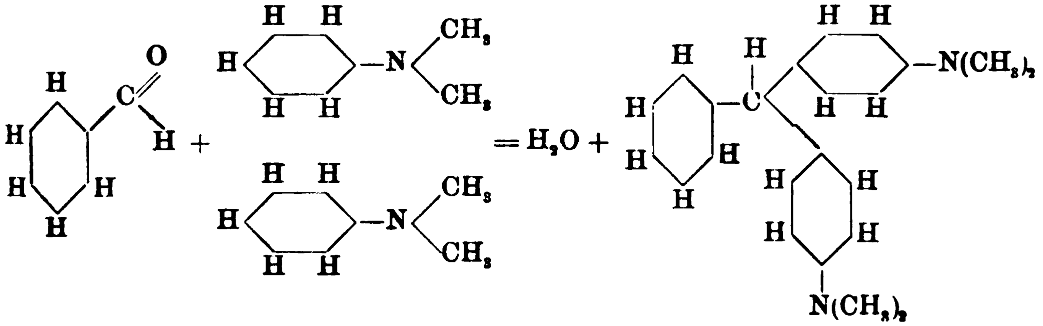
Diese Untersuchungen führten uns zu der Erkenntnis, daß das Malachitgrünnährbodenverfahren eine durchaus spezifische Untersuchungsmethode zum Nachweis der Typhus- und Paratyphus-Bakterien in den Faeces ist.

Zur Orientierung über die theoretische Grundlage des Malachitgrünnährbodenverfahrens führen wir noch folgendes aus:

Das Malachitgrün gehört zu den Triphenylmethanfarbstoffen. Bei der Herstellung des Farbstoffes unterscheiden wir drei für unsere Zwecke wesentlichen Phasen:

1. Phase: Bildung der Leukobase des Malachitgrünfarbstoffes, des Tetramethyldiaminotriphenylmethans, durch Erhitzen von Benzaldehyd mit Dimethylanilin in Gegenwart eines wasserentziehenden Mittels, des Chlorzinks.

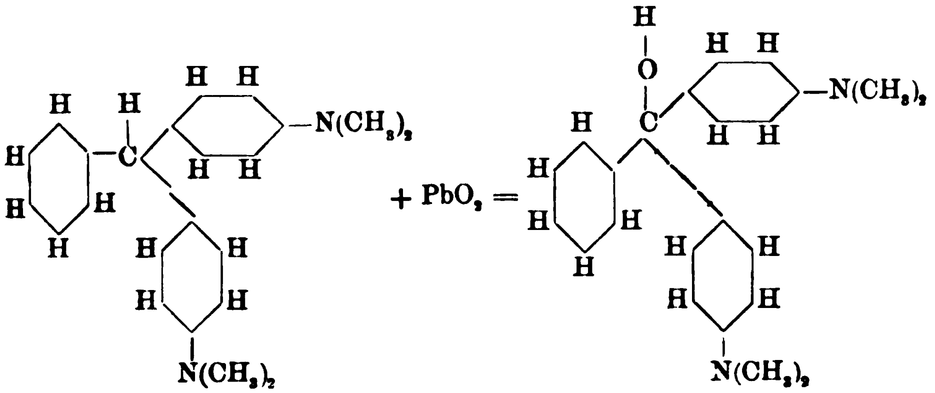
In Formel:



Benzaldehyd Dimethylanilin Tetramethyldiaminotriphenylmethan

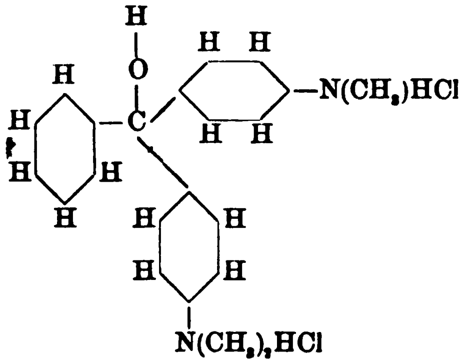
Die Leukobase bildet farblose Kristalle.

2. Phase: Bildung der Farbbase, des Triphenylcarbinols, durch Oxydation (mit Bleisuperoxyd in schwefelsaurer Lösung):

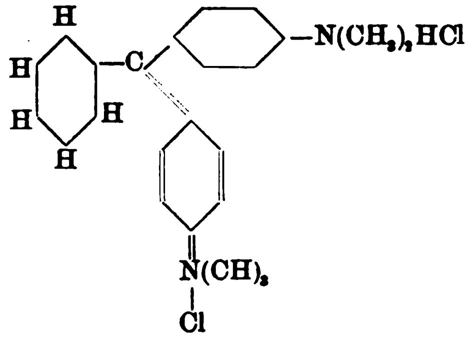


Die entstehende Farbbase bildet ebenfalls farblose Kristalle.

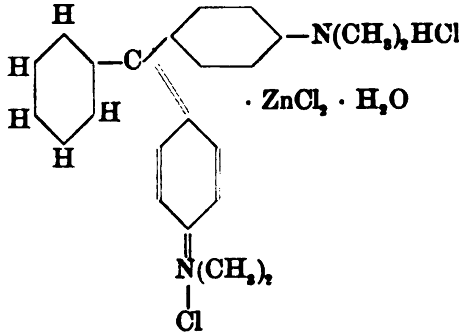
3. Phase: Bildung des Farbstoffes selbst: als Aminbase ist die Farbbase zur Salzbildung befähigt; sie wird von Salzsäure gelöst, und es entsteht das farblose Chlorid der Aminbase:



Durch Erhitzen dieser Lösung entsteht unter Wasserabspaltung der Malachitgrünfarbstoff:



In den Malachitgrünnährboden wird der Farbstoff in Form des Chlorzinkdoppelsalzes eingeführt:



Außerdem setzt das Verständnis der Theorie des Malachitgrünnährbodenverfahrens die Kenntnis noch folgender Reaktionen des Malachitfarbstoffes voraus:

1) Durch Behandeln der wäßrigen Lösung mit Alkali, Natriumkarbonat oder Ammoniak wird die Lösung entfärbt, und zwar bei Anwendung von Alkali sofort, im 2. und 3. Falle nach längerer Zeit. Durch Temperaturerhöhung wird der Vorgang beschleunigt. Die Entfärbung läßt sich so erklären, daß eben durch diese Behandlungsweise die farblose Farbbase gefällt wird.

2) Durch Behandeln mit Säure wird diese Farbbase wieder gelöst und geht allmählich bei gelindem Erwärmen wieder in den Farbstoff über.

3) Durch Reduktion wird der Farbstoff in die Leukobase übergeführt.

4) Durch Mineralsäuren wird die Farbe des Malachitgrüns durch Gelbgrün in ein schmutziges Gelbbraun übergeführt.

Diese Fakta, in Verbindung mit dem Ergebnis der nun zu schildernden spezielleren Untersuchungen, ergeben die Möglichkeit einer An-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

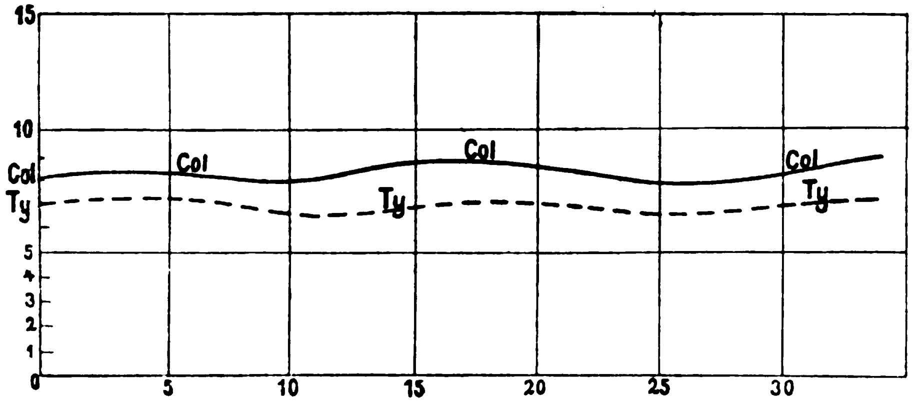
reicherung und Selektion der Typhus- und Paratyphus B-Bakterien gegenüber den Coli-Bakterien mit Hilfe des Malachitgrünfarbstoffes.

Zunächst galt es, rein experimentell folgende Fragen zu beantworten:

1. Frage: Gibt es eine Zusammensetzung des Malachitgrünnährbodens, bei welcher auf demselben Coli stärker gehemmt wird als Typhus, oder gar wo Coli-Wachstum vollständig aufhört, das Wachstum des Typhus jedoch wenig gehemmt wird?

2. Frage: Gibt es nur eine solche Zusammensetzung?

3. Frage: Gesetzt, es existieren solche Zusammensetzungen, wie steht es dann mit den Nachbargebieten dieser bestimmten Zusammensetzungen? Zeigt das Coli- und Typhuswachstum auf den Nährböden, welche sich in ihrer Zusammensetzung quantitativ wenig von den obigen Zusammensetzungen unterscheiden, ein ähnliches und graduell wenig verschiedenes Verhalten, oder sind diese hinsichtlich ihres Zweckes optimalen Zusammensetzungen isolierte Punkte. Die Beantwortung speziell dieser Frage ist für die Technik der Anfertigung des Nährbodens fundamental.



Kurve 1. Kein Malachitgrünzusatz. Anzahl der $^1/_{10}$ ccm einer 1-proz. Sodalösung.

Bei den Versuchen, diese Frage zu beantworten, ließen wir uns von folgenden Erwägungen leiten: Wie wir oben gesehen, wird der Malachitfarbstoff durch Sodabehandlung zerstört, indem die Farbbase gefällt wird. Nehmen wir zunächst an, die entstehende Farbbase verhält sich dem Wachstum der Coli- und Typhusbakterien gegenüber indifferent, so wird man offenbar auf die gesuchten optimalen Nährbodenzusammensetzungen (natürlich vorausgesetzt, es gibt solche) entweder auf dem Wege stoßen können, daß man einmal den Gehalt des Nährbodens an Malachitgrün konstant hält und den Sodazusatz in gewissen Grenzen variiert, oder daß man dem Nährboden eine bestimmte Reaktion verleiht und den Malachitzusatz variiert.

Wir schlagen zunächst den ersten Weg ein.

Um den Einfluß des Malachitgrüns auf das Wachstum der Typhus- und Coli-Bakterien in seinem ganzen Umfange erkennen zu können, machen wir folgenden Vorversuch (Versuch A): Wir setzen zu diesem Zweck zu dem Nähragar überhaupt kein Malachit zu und variieren den Sodazusatz, jedoch in derselben Weise wie unten, nach Zusatz von Malachit.

Versuchsanordnung und Resultat ergibt sich aus folgender Darstellung:

Versuch A. (Kurve 1.)

Dieser Zeichnung, wie allen folgenden, liegen mehrere Versuche derselben Art zugrunde; die Kurven sind als Durchschnittskurven dieser

Versuche aufzufassen; die Coli-Wachstumskurve ist zugleich als Durchschnittskurve der betreffenden Kurven verschiedener Coli-Stämme anzusehen. Die Kurven der verschiedenen Coli-Stämme wichen nicht wesentlich voneinander ab.

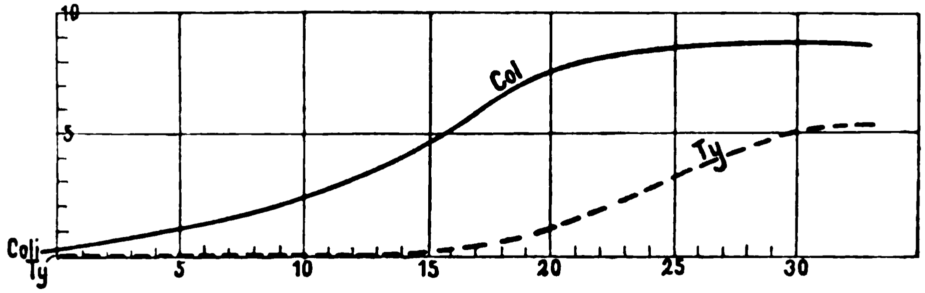
Wie die Zeichnung zeigt, kamen wir zu dem überraschenden Resultat, daß Typhus- und Coli-Wachstum durch Aenderung der Alkalität des Nährbodens, ceteris paribus, fast gar keine Schwankungen in ihrer Stärke aufweisen; die bestehenden minimalen Wachstumsschwankungen sind überdies bei Typhus- und Coli-Bakterien gleich stark.

Wie gestaltet sich nun der betreffende Kurvenverlauf, wenn man die Alkalität des Nährbodens in derselben Weise wie bei Versuch A ändert, nachdem man jedoch den Nährboden mit einer gewissen Malachitgrünmenge versetzt hat? Folgende Figur gibt das Durchschnittsresultat unserer diesbezüglichen Versuche:

Versuch B. (Kurve 2.)

Der Nährboden ist versetzt mit 4 ccm einer 0,2-proz. Malachitgrünlösung mit 100 ccm Agar.

Wir sehen: Das Malachitgrün wirkt sowohl auf das Wachstum der Typhusbakterien, als auch auf dasjenige der Coli-Bakterien hemmend ein. Ferner sehen wir, daß mit Steigerung des Sodazusatzes jene hemmende Wirkung des Malachitgrüns in demselben Maße neutralisiert wird. Da durch Sodazusatz das Malachitgrün, entsprechend der zugesetzten Sodamenge, in ihre Farbbase übergeführt wird, können wir die Verhältnisse auch folgendermaßen formulieren: Die hemmende Wirkung des Malachitgrüns auf das Wachstum von Typhus- und Coli-Bakterien ist seiner Konzentration im Nährboden proportional.



Kurve 2. Anzahl der $^1/_{10}$ ccm einer 1-proz. Sodalösung auf 100 ccm Agar. Grade des Wachstums.

Doch weiter: Durch die allmähliche Vernichtung des Malachitgrünfarbstoffes durch allmählich gesteigerten Sodazusatz hat der Närboden alle überhaupt in Betracht kommenden Konzentrationen an Malachit durchlaufen (bei 30° der Alkalität war die grüne Farbe des Nährbodens vollständig verschwunden), jedoch auf einen Punkt, in welchem das Coli-Wachstum stärker gehemmt wird als Typhuswachstum, sind wir nicht gestoßen, im Gegenteil scheinen, wie es Fig. B vermuten läßt, die Coli-Stämme dem Malachitgrün gegenüber widerstandsfähiger zu sein als Typhusbakterien. Versuche A und B sprechen also gegen die Möglichkeit, mit Hilfe des Malachitgrüns Typhusbakterien gegenüber Coli-Bakterien anzureichern.

Doch der Versuchsanordnung B haftete das Eigentümliche an, daß zwar der Malachitgehalt durch Variierung des Sodazusatzes alle in Betracht kommenden Konzentrationen durchlief, jedoch als Reaktionsprodukt immer eine der jeweilig zugesetzten Sodamenge entsprechende Menge Farbbase entstand; sollte wohl sie der störende Faktor sein?

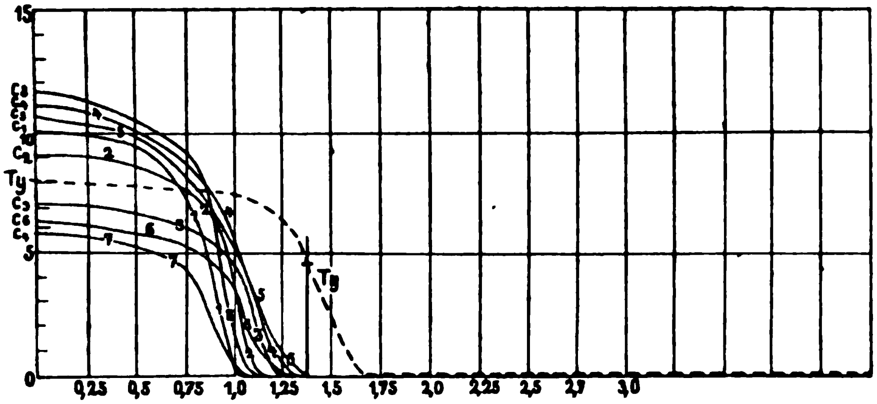
Wir werden darüber Gewißheit erhalten, wenn wir den Malachitgehalt wieder alle in Betracht kommenden Grade durchlaufen lassen, jedoch dabei das Entstehen von Farbbase ausschalten.

Wie erreichen wir das?

Wir nehmen einen neutralen Nähragar und variieren den Gehalt an Malachitgrün durch direkte Zugabe immer größer werdender Mengen Malachitgrün.

Wir ersehen aus folgender Zeichnung das Ergebnis unserer diesbezüglichen Untersuchungen.

Die Kurven repräsentieren wieder die Durchschnittskurven zahlreicher Untersuchungen; die Durchschnittskurven der einzelnen verwendeten Coli-Stämme haben wir als solche eingezeichnet.



Kurve 3. Anzahl der Kubikzentimeter einer 0,2-proz. Malachitgrünlösung mit 100 ccm Agar.

Versuch C. (Kurve 3.)

Wir sehen, gegenüber Versuch B hat der Kurvenverlauf eine (mit Rücksicht auf unser Ziel) wesentliche Aenderung erfahren.

Durch allmähliche Steigerung des Malachitzusatzes von 0 ccm bis auf 1,30 ccm einer 0,2-proz. wäßrigen Malachitgrünlösung auf 100 ccm Agar wird das Coli-Wachstum immer stärker gehemmt und hört bei der Malachitgrünkonzentration: 1,30 vollständig auf. Und zwar sehen wir, daß es zwischen den Malachitgrünkonzentrationen: 1,0—1,25 sehr stark und plötzlich abfällt.

Von fundamentaler Bedeutung für unser Ziel ist nun die Tatsache, daß zwar die Kurven des Typhus- und Coli-Wachstums einen ähnlichen Verlauf zeigen, die Kurve des Typuswachstums jedoch in der Richtung des steigenden Malachitgehalts verschoben ist. Wir erkennen: auf dem Nährboden mit dem Malachitgehalt 1,3 ccm einer 0,2-proz. Malachitgrünlösung auf 100 ccm Agar (natürlich nur den Agar, der zu diesem Versuch verwendet wurde) wächst Coli überhaupt nicht mehr, während Typhus noch relativ starkes Wachstum (Wachstumgrad 5) aufweist. Dieses ist also die gesuchte optimale Zusammensetzung.

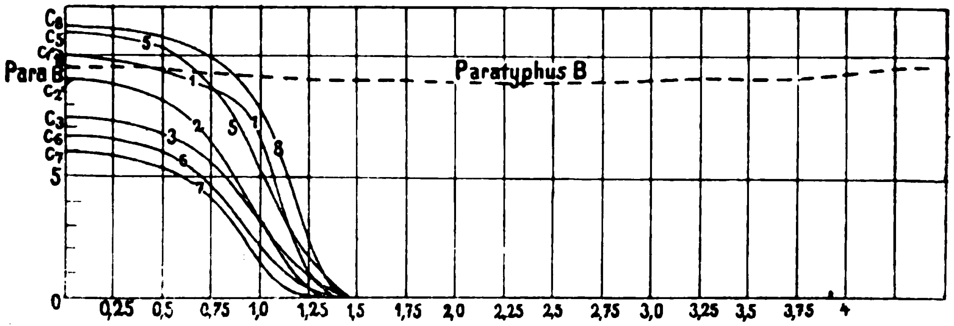
Die 1. Frage: nach der Existenz überhaupt einer solchen Zusammensetzung, bei welcher das Coli-Wachstum vollständig gehemmt wird und die Typhusbakterien noch relativ gut gedeihen, ist also bejahend zu beantworten.

Die 2. Frage: nach der Anzahl der so charakterisierten Zusammensetzungen ist auf Grund unserer Versuchsanordnung und der

Resultate derselben, in Verbindung mit einer hier durchaus zulässigen Extrapolation, dahin zu beantworten, daß es nur eine solche Zusammensetzung für eine bestimmte Agarmasse gibt.

Die Frage 3 nach den Wachstumsverhältnissen der Typhus- und Coli-Bakterien auf den der optimalen Zusammensetzung benachbarten Zusammensetzungen ist, wie wir aus der Fig. C ablesen, dahin zu beantworten, daß beim Zusetzen der Malachitmenge ein positiver Fehler von 0,2 ccm der 0,2-proz. Malachitgrünlösung den Nährboden vollständig unbrauchbar macht, ja daß schon ein Fehler von ± 0,01 ccm der 0,2-proz. Malachitgrünlösung relativ große Schwankungen des Typhuswachstums zur Folge hat.

Für die Technik der Abstimmung des Nährbodens ist es noch von Wert, zu wissen, wie stark ein bestimmter Neutralisierungsfehler die zuzufügende Menge an Malachitgrün beeinflußt; welcher Größenordnung ist diese Abhängigkeit? Wir wollen annehmen, wir hätten zwei gleiche Mengen derselben Agarmasse neutralisiert, zu der ersten Menge jedoch 1 ccm einer 1-proz. Sodalösung auf 100 ccm Agar mehr hinzugegeben als zu der zweiten Menge; wie groß ist der Unterschied der beiden betreffenden hinzuzugebenden Malachitgrünmengen? Dieser Unterschied beträgt, wie wir auf Grund mehrfacher Versuche angeben können, 0,25 ccm der 0,2-proz. Malachitgrünlösung.



Kurve 4. Anzahl der $^1/_{10}$ ccm einer 0,2-proz. Malachitgrünlösung auf 100 ccm Agar.

Die Möglichkeit einer Selektion und Anreicherung der Typhusbakterien gegenüber den Coli-Bakterien mit Hilfe des Malachitgrünnährbodens haben wir experimentell erwiesen. Besteht diese Möglichkeit auch für Paratyphus B?

Folgende graphische Darstellung unserer sich hierauf beziehenden Versuche gibt auch darüber Aufklärung.

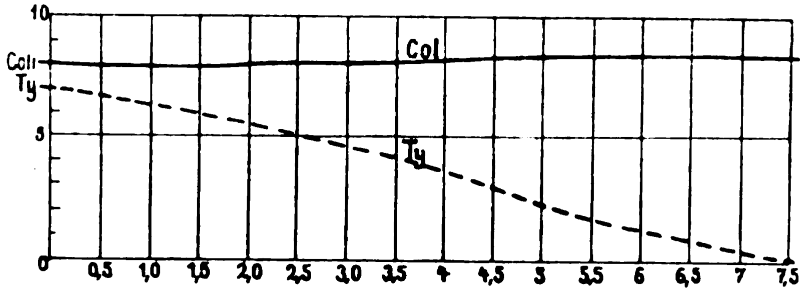
Versuch D. (Kurve 4.)

Wie wir sehen, kommen wir zu dem überraschenden und für unser Ziel außerordentlich günstigen Ergebnis, daß das Wachstum der Paratyphus B-Bakterien durch den Malachitzusatz überhaupt nicht beeinträchtigt wird.

Zur Selektion und Anreicherung der Paratyphus B-Bakterien gegenüber den Coli-Bakterien wird man also entweder ebenfalls die zur Anreicherung der Typhusbakterien angefertigten Nährböden benutzen können, oder, falls nur auf Paratyphus B zu untersuchen ist, einfach neutralen Nähragar mit beliebigen, jedoch relativ großen Mengen Malachitgrün (3—5 ccm der 0,2 proz. Malachitgrünlösung auf 100 ccm Agar) versetzen und diesen als Nährboden benutzen können.

Bevor wir das endgültige Rezept für die Malachitgrünnährbodenbereitung festlegen, wollen wir uns noch mit der Theorie des Malachitgrünnährbodens befassen, da diese ebenfalls noch wertvolle Gesichtspunkte hierfür liefert. Mitten in die Theorie führt uns jene noch unbeantwortete Frage, warum wir durch Variierung des Sodazusates in Versuch B die optimale Zusammensetzung des Nährbodens nicht finden konnten. Wie wir schon oben betont haben, ist diese Versuchsanordnung mit dem Auftreten einer, der jeweilig zugesetzten Sodamenge entsprechenden Menge von Farbbase, des Triphenylcarbinols, verbunden. Wie man leicht einsieht, kann der scheinbare Widerspruch zwischen dem Ergebnis des Versuches B und demjenigen des Versuches C dadurch gelöst werden, daß man annimmt, daß die Farbbase das Wachstum der Coli-Bakterien nicht beeinträchtigt, dagegen das der Typhusbakterien ihrer Konzentration proportional hemmt, daß diese Hemmung jedoch geringer ist, als diejenige der der betreffenden Menge Farbbase äquivalenten Menge Malachitgrün. Das Experiment hat diese Annahme bestätigt.

Kurve E gibt eine Uebersicht über Anordnung und Resultat des betreffenden Versuches. Die Farbbase, die wir hierbei benutzen, erhielten wir durch Behandeln der 0,2-proz. Malachitgrünlösung mit Soda; gleiche Volumina der 0,2-proz. Malachitgrünlösung und der mit Soda behandelten, gleich starken Malachitgrünlösung enthalten äquivalente Mengen an Farbstoff und Farbbase.



Kurve 5. Anzahl der Kubikzentimeter der Farbbase.

Versuch E. (Kurve 5.)

Das Kurvensystem B gibt also ein Bild der superponierten Wirkungen des Malachitgrüns und der Farbbase auf das Wachstum der Typhus- und Coli-Bakterien.

Wie kommt nun der das ganze Malachitgrünnährbodenverfahren bedingende Verlauf der Typhus- und Coli-Wachstumskurven zustande, wie er in der Zeichnung C zur Darstellung gekommen ist? Auf Grund des chemischen Verhaltens des Malachitgrüns gegenüber Alkali, Soda und Säuren ist folgende Erklärung hierfür möglich:

Wir können annehmen, daß Typhus- und Paratyphus B-Bakterien sowie Coli-Bakterien, infolge ihrer sehr ähnlichen Konstitution, der Einwirkung des Malachitgrüns in gleicher Weise unterworfen wären, wenn sie nicht ihrerseits, vermöge der bei jedem von ihnen durch ihren Lebensprozeß entstandenen verschiedenen Produkte, verschieden auf den Malachitgrünfarbstoff einwirken würden. So erzeugen bekanntlich die Typhus- und Paratyphusbakterien auf den üblichen Nährböden Alkali; wie wir oben vermerkt haben, wird das Malachitgrün durch Alkali in seine Farbbase übergeführt. Die Typhus- und Paratyphus B-Bakterien werden auf dem Malachitgrünnährboden also bis zu einem gewissen Grade das Malachitgrün ihrer Umgebung in Farbbase umsetzen und, da die Farbbase weniger hemmend auf die Typhusbakterien einwirkt, als die äquivalente Menge Malachitgrün, dadurch bis zu einem gewissen Grade ihr Wachstum begünstigen. Daß bei diesem Vorgang gleichzeitig das entstandene Alkali neutralisiert wird, ist ebenfalls ein Moment, welches dem Wachstum der betreffenden Bakterien günstig ist.

Wie steht es nun in dieser Hinsicht mit den Coli-Bakterien? Bekanntlich erzeugt Coli auf den üblichen Nährböden Säure. Die Farbe des Malachitgrüns geht, wie wir oben festgestellt haben, in schmutziges Gelbbraun über; die spezifische Wirkung des Malachitgrüns wird jedoch dadurch nicht modifiziert. Ja die Coli-Bakterien werden durch die Säurebildung etwa vorhandene Farbbase in Malachitgrün überführen und dadurch selbst ihrem Wachstum entgegenarbeiten.

So kann man sich etwa die Tatsache erklären, daß die Typhus- und Paratyphusbakterien auf neutralem Nährboden eine größere Malachitkonzentration ertragen als Coli-Bakterien.

Aus den bisherigen Ausführungen ergeben sich für die Anfertigung eines wirklich fehlerlos arbeitenden Malachitgrünnährbodens folgende Vorschriften:

Auf die übliche Weise angefertigter Nähragar wird möglichst genau mit Soda neutralisiert, wobei man geflissentlich besonders einen Fehler nach der sauren Seite hin vermeiden muß. Im Laufe der Zeit hat es sich als zweckmäßig herausgestellt, zu 100 ccm des Agars nach dem Einstellen des Phenolphtaleinneutralpunktes noch 1—1,5 ccm einer Normalsalzlösung hinzuzugeben. Diese Beobachtung verdanke ich der Schwester vom Roten Kreuz Elsbet Arnold, zurzeit Laborantin in dem Feldlaboratorium, in dem diese Arbeit entstanden ist. Nach der Neutralisation wird der Agar in genau abgemessene Portionen geteilt, die einzelnen Portionen werden in kleinere Gefäße gefüllt und so sterilisiert; dann erkalten lassen. Hiervon werden 200 ccm wieder flüssig gemacht; in 10 sterile Petri-Schalen werden 10 Mengen einer 0,2-proz. Malachitgrünlösung gebracht, welche eine arithmetische Reihe bilden mit dem Anfangsglied 0,05 ccm und mit einem ebenso großen Differenzglied. Dann gießt man weiter in jede dieser Schalen 20 ccm des flüssig gemachten und unter 80° abgekühlten Agars und mischt dabei gut den letzteren mit dem Malachitgrün, durch Schwenken. Die getrockneten Platten werden dann mit einem Typhusstamm und mehreren Coli-Stämmen getrennt beimpft. Nach 20-stündigem Stehen im Brutschrank wird leicht die Platte mit der optimalen Zusammensetzung gefunden werden; wenn nötig, kann die optimale Zusammensetzung durch Interpolation erchlossen werden.

Vergleich des Malachitgrünnährbodenverfahrens mit dem Petrolätherverfahren.

In Ermangelung einer Schüttelmaschine haben wir das Malachitgrünnährbodenverfahren nur dem Petrolätherverfahren mit der Technik, wie es von Bierast angegeben ist, gegenüberstellen können; da jedoch die von Hall angegebene Technik des Verfahrens, abgesehen von einer Zeitersparnis, wie Hall angibt, dasselbe leistet, so wird deren Brauchbarkeit damit ebenfalls in den Vergleich miteingeschlossen.

Wir stellten beide Verfahren vor die relativ schwere Aufgabe, in einem Gemisch von 5 ccm einer 24-stündigen Coli-Bouillonkultur und einem Tropfen einer Typhus-Bouillonkultur von derselben Dichte Typhusbakterien nachzuweisen.

Bei direkter Aussaat waren auf der Endo- wie Drigalski-Platte etwa vorhandene Typhuskolonien natürlich von den Coli-Kolonien vollständig überwachsen.

Wir brachten nun 2 ccm dieser Mischung auf einen, wie oben angegeben, hergestellten Malachitgrünnährboden und die so beimpfte Platte in den Brutschrank; ebenfalls 2 ccm der Mischung brachten wir in ein Schüttelglas und nahmen die Behandlung mit Petroläther (C. A. F. Kahlbaum, Petroleumäther 0,640—0,660, Adlershof bei Berlin) genau nach der Vorschrift vor, wie Bierast sie angegeben, und ließen dann die Schüttelemulsion 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Genau nach Vorschrift, brachten wir dann einige Tropfen des Bodensatzes auf eine Endo- und eine Drigalski-Platte. Desgleichen nahmen wir nach 16 Stunden die Malachitgrünplatte aus dem Brutschrank, übergossen die darauf gewachsenen Kolonien mit 3—4 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung und schwenkten einige Male vorsichtig die Schale. Nach $^1/_4$-stündigem Stehenlassen brachten wir vorsichtig von der Oberfläche der Abschwemmung einen Tropfen Material auf eine Endo-Platte, in derselben Weise einen Tropfen auf eine Drigalski-Platte.

Das Resultat von 3, in derselben Weise angestellten, Versuchen war folgendes:

In allen 3 Versuchen wiesen die aus dem Malachitgrünnährbodenverfahren hervorgegangenen Endo- und Drigalski-Platten durchschnittlich 100—150 isolierte Kolonien auf; durchschnittlich $^3/_4$ der Anzahl waren Typhuskolonien, $^1/_4$ der Anzahl Coli-Kolonien.

Die aus dem Petrolätherverfahren hervorgehenden Platten zeigten folgendes Aussehen:

In 2 Versuchen wies weder die Endo-Platte noch Drigalski-Platte irgendwelche Kolonien auf.

Im 3. Versuch fanden wir auf der Endo-Platte 3 Typhuskolonien; auf der Drigalski-Platte zeigte sich keinerlei Wachstum.

Wir sehen, dieser Aufgabe ist die Petroläthermethode nicht gewachsen; das Malachitgrünnährbodenverfahren hat sie glatt gelöst.

Darin dürfte ein Nachteil der Petroläthermethode bestehen, daß dabei zwar die Coli-Bakterien vollständig vernichtet werden, die Zahl der Typhuskolonien jedoch nicht wesentlich größer wird, da die Emulsion bei Zimmertemperatur stehen muß, und durch die darüber lagernde Petrolätherschicht fast vollständig anaërob gehalten wird. Wenn nun in dem Untersuchungsmaterial relativ wenig Typhusbakterien vorhanden sind, so kann es vorkommen, wie wir oben gesehen haben, daß überhaupt keine Keime auf die Platte kommen.

Dem Petrolätherverfahren fehlt das Moment der Anreicherung; es ist ein Verfahren, durch welches die Begleitbakterien abgetötet werden, während das Malachitverfahren ein Anreicherungsverfahren sensu strictiori darstellt. Die Anzahl der Coli-Kolonien auf der Endo- und Drigalski-Platte des Malachitgrünnährbodenverfahrens kann dadurch noch herabgesetzt werden, daß man die Abschwemmung der Malachitplatte in ein Agglutinationsröhrchen bringt, dieses $^1/_4$ Stunde stehen läßt und dann vorsichtig von der Oberfläche Material auf die Platten bringt. Es wird dadurch noch die Trennung der Typhuskeime von den etwa noch lebensfähig gebliebenen Coli-Keimen begünstigt, die dadurch zustande kommt, daß die Typhuskeime, infolge ihrer größeren Beweglichkeit, schneller an die Oberfläche der Flüssigkeit gelangen, als die Coli-Keime.

Für den Nachweis von Paratyphus B-Bakterien fiel der Vergleich für das Malachitgrünverfahren noch günstiger aus: Versuchsanordnung wie oben, nur daß statt Typhusbakterien Paratyphus B-Bakterien verwandt wurden.

Es wurden ebenfalls 3 Versuche angestellt.

Bei dem Malachitgrünnährbodenverfahren wiesen in 2 Versuchen die Endo- und Drigalski-Platten vollständige Reinkulturen von 40 bis 70 Kolonien von Paratyphus B-Bakterien auf. Im 3. Versuch befand sich eine ebensolche Reinkultur auf der Endo-Platte; die Drigalski-Platte wies außerdem noch vereinzelte Coli-Kolonien auf.

Die verwendeten Malachitgrünplatten hatten eine Malachitgrünkonzentration von 4 ccm einer 0,2-proz. wäßrigen Malachitgrünlösung auf 100 ccm Agar.

Bei dem Petrolätherverfahren wiesen in 2 Versuchen die Platten überhaupt keine Kolonien auf; im 3. Versuch waren die Platten von einzelnen Coli-Kolonien bedeckt.

So gelang es auch mit Hilfe des Malachitgrünnährbodenverfahrens, sowie durch direkte Aussaat in einem Stuhle, Paratyphus B-Bakterien nachzuweisen, während das mehrmals wiederholte Petrolätherverfahren hierbei ein negatives Resultat ergab [1]).

Der Nachweis von Paratyphus B-Bakterien in einer Leberwurstkonserve gelang nur auf dem Wege des Malachitgrünnährbodenverfahrens; die Endo-Platte wies hierbei eine Reinkultur von 45 Paratyphus B-Kolonien auf.

Für den Nachweis von Paratyphus B-Bakterien geben wir, auf Grund obiger Resultate, dem Malachitgrünnährbodenverfahren vor dem Petrolätherverfahren unbedingt den Vorzug.

Ebenfalls besteht, mit Rücksicht auf obige Resultate, die Wahrscheinlichkeit, daß bei dem Nachweis von Typhusbakterien im Stuhl das Malachitgrünnährbodenverfahren zum mindesten dasselbe leistet wie das Petrolätherverfahren; natürlich immer vorausgesetzt, daß die Malachitgrünplatten wirklich fehlerlos hergestellt sind.

Hinsichtlich der Technik und des Materialaufwandes möchten wir noch folgendes hervorheben:

Wenn einmal erst die einer Agarmasse zuzusetzende Malachitgrünmenge bestimmt ist und man von dieser Agarmasse relativ große Menge vorrätig hält, ist das weitere Malachitgrünnährbodenverfahren mit viel weniger Arbeit und vornehmlich weniger Materialaufwand verknüpft, als das Petrolätherverfahren.

---

[1]) Notiz nach Abschluß der Arbeit:
Ebenso konnte jüngst, bei Gelegenheit von in einer Anstalt vorgekommenen Paratyphusfällen, unter 18 Erkrankungsfällen 4mal in den letzten Stuhluntersuchungen der Bazillennachweis nur mehr mit Hilfe des Malachitverfahrens geführt werden, während das Petrolätherverfahren versagte. Auch in den vorher vorgenommenen Stuhluntersuchungen waren bei diesen Fällen von den Drigalski-Platten aus der Malachitabschwemmung immer mehr Paratyphuskolonien aufgegangen, als auf den vom Petrolätherrückstand angelegten Platten.

Ferner ist das Petrolätherverfahren mit dem Nachteil verbunden, daß

1) die Beschaffung von Petroläther, besonders jetzt während des Krieges, äußerst schwierig ist;

2) die verwendeten Gummistopfen öfters durch neue ersetzt werden müssen, da der Petroläther sie angreift;

3) die Petroläthermethode mit relativ großer Infektionsgefahr verknüpft ist.

Nachdruck verboten.

Zweite Mitteilung über das Auftreten des Hühnertyphus und die Eigenschaften seines Erregers.

[Aus der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser Wilhelm-Instituts für Landwirtschaft zu Bromberg.]

Von

Willy Pfeiler, und **Erika Roepke**,
Leiter des Instituts Praktikantin.

Im Jahre 1912 haben Pfeiler und Rehse[1]) genaue Angaben über eine Hühnerseuche gemacht, die sie als Typhus der Hühner bezeichnet haben. Bezüglich der eingehenderen Literatur, die von den Autoren, kritisch gesichtet, mitgeteilt worden ist, sei auf die in der Arbeit gemachten Daten verwiesen. Die vorliegende Mitteilung soll die erste Veröffentlichung ergänzen[2]), bzw. einzelne Punkte, die wegen der Neuheit der Frage nicht sogleich zu übersehen waren, richtigstellen.

Die Krankheit ist 1912 folgendermaßen beschrieben worden:

> In einem Bestande von 87 Hühnern gingen plötzlich 12 Tiere ein. Im weiteren Verlaufe der Seuche starben, bzw. mußten 31 Hühner notgeschlachtet werden, ohne daß besondere Krankheitserscheinungen beobachtet werden konnten. Die Tiere fielen nach Mitteilung des beamteten Tierarztes ganz plötzlich um oder wurden morgens tot im Stalle gefunden. So plötzlich, wie die Krankheit aufgetreten war, hörte das Sterben auf; jedoch machte der ganze Bestand noch längere Zeit einen kranken Eindruck. Die Tiere bewegten sich nicht so munter wie früher, fraßen weniger und hörten auf zu legen. Dieser Zustand hat 3 Wochen gedauert; dann erschienen die Tiere wieder gesund. Anderes Geflügel, wie Gänse, Enten und Tauben blieben verschont. Der Kreistierarzt teilte weiter mit, daß er vor 4 Jahren eine ganz ähnliche Hühnerkrankheit auf 2 Gütern beobachtet hätte. Die Krankheit sei auch damals sehr ansteckender Natur gewesen, denn sie ging von den Hühnern des Gutes auf die der Arbeiter über, und als der eine der Besitzer die Tiere auf ein Vorwerk bringen ließ, starben nach einigen Tagen auch dort die Hühner der Arbeiter. Cholera und Pest lag nicht vor. Es blieben auch in diesen Fällen Enten, Gänse und Tauben verschont.

---

1) Pfeiler u. Rehse, Bacillus typhi gallinarum alcalifaciens und die durch ihn verursachte Hühnerseuche. (Mitt. d. Kaiser Wilhelm-Inst. f. Landw. in Bromberg. Bd. 5. 1913. p. 306.)

2) Die Krankheit ist in der Zwischenzeit noch mehrfach in verschiedenen Beständen, zum Teil in sehr schwerer Form, aufgetreten, so daß ihre eingehendere Schilderung ein allgemeineres Interesse beanspruchen kann.

Der pathologisch-anatomische Befund bei den seinerzeit zur Untersuchung eingesandten Hühnern war in der Hauptsache folgender: Im Herzbeutel serofibrinöse Flüssigkeit. Lebern stark vergrößert, von trüber graugelber bzw. braungelber Farbe, weisen unregelmäßige stecknadelkopf- bis hirsekorn- oder erbsengroße, graugelbe Verfärbungen auf. Milz bei allen Tieren graurot, von der Größe einer kleinen Walnuß. Darmschleimhaut in 2 Fällen geschwollen und gerötet, in einem Falle auf der Dünndarmschleimhat punktförmige Blutungen. In der Bauchhöhle des einen Tieres etwas gelblich seröse Flüssigkeit, in der Bauchhöhle eines anderen mehrere Blutgerinnsel von zusammen Walnußgröße.

In Ausstrichpräparaten waren bei keinem der Tiere Krankheitserreger nachzuweisen. Als Erreger wurde bei der kulturellen Prüfung, bzw. auf Grund von Infektionsversuchen, ein Bacillus ermittelt, der infolge seines biochemisch-agglutinatorischen Verhaltens in die Gruppe der Coli-Typhusbacillen eingereiht werden mußte. Sein genaueres biochemisches, bzw. agglutinatorisches Verhalten soll auf Grund der neueren Untersuchungen in dieser Arbeit geschildert werden. Die seinerzeit erhobenen Befunde stimmen mit den hier mitgeteilten bis auf unwesentliche Abweichungen überein und sollen weiter unten besprochen bzw. erklärt werden.

Die Veranlassung zu den nachstehenden Untersuchungen hat die im April des Jahres 1915 seitens des Hegemeisters Sch. in K. erfolgte Einsendung eines verendeten Huhnes gegeben. In dem Hühnerbestande waren nach Mitteilung des Besitzers in den letzten Tagen 10 Tiere unter gleichen Krankheitserscheinungen verendet. Auch im Nachbargehöft soll dieselbe Krankheit unter den Hühnern aufgetreten sein. Die Tiere taumelten, saßen mit blassen Kämmen in den Winkeln und entleerten flüssigen, gelblichen Kot. Schon im vorhergehenden Jahre soll die Krankheit in dem Hühnerbestande des Sch. geherrscht haben. Nachdem die Ställe, Futtergefäße usw. damals mehrfach desinfiziert worden waren, erlosch die Seuche. Der Besitzer nahm an, daß die Krankheit im Vorjahre durch eine fremde Bruthenne eingeschleppt worden war.

Bei dem verendeten Huhn wurde außer einer leichten Milzschwellung und geringgradigen Verdickung der Schleimhaut des Dickdarmes in seinem ganzen Verlaufe nichts weiter an Veränderungen festgestellt.

Bakteriologischer Befund. In mikroskopischen Präparaten aus dem Herzblut und den Organen des Tieres waren einzelne gramnegative Stäbchen nachzuweisen, wie man sie gelegentlich auch bei anderen verendeten Hühnern findet (Aussehen der Coli-Bacillen!). Auf Liebig-Agar angelegte Herzblutkulturen blieben steril. Dagegen wuchsen auf der Conradi-Drigalski-Platte aus den Organen sowohl als auch dem Herzblut zahlreiche, feucht erscheinende, leicht graublaue Kolonien, die Neigung hatten, nach 48 Stunden ineinander zu wachsen, bzw. auf den dichter besäten Teilen der Platte sich zu einem üppigen, schleimigen Rasen zu vereinigen. Der Nährboden wurde durch die Bakterien blau gefärbt.

Nach ein paar Tagen nahmen die Kolonien ein Aussehen an, das in der Folge in allen Versuchsreihen wiedergefunden wurde und als äußerst charakteristisch angesehen werden kann, so daß das geübte Auge schon am Wachstum der Kolonien erkennen kann, ob die Erreger des Hühnertyphus angesiedelt sind oder nicht. Bei durchfallendem Licht ist nämlich um ein punktgroßes, verdunkeltes, bzw. völlig undurchsichtiges Zentrum ein glasig durchscheinender Kreis gelagert. Einzeln auf der Blauplatte gelegene Kolonien dehnen sich außerordentlich aus und erreichen einen Durchmesser von 3—5 mm, wobei das charakteristische Ineinanderfließen der Kolonien wieder hervortritt. Gelegentlich — anscheinend entscheidet hierüber die Beschaffenheit des

Nährbodens — ist dieses Ineinanderwachsen, das besonders auch auf Rindfleischagar in die Erscheinung tritt, schon am Tage nach der Aussaat festzustellen, wenn die Kolonien noch nicht anders erscheinen als solche von Paratyphus B-Bacillen. In der Regel sind die Kolonien nach 24 Stunden weniger stark entwickelt als die der letztgenannten Bakterien. Die Farbe der Kolonien, die sich kuppelförmig auf der Platte wölben, nimmt allmählich einen bläulich-weißen Ton an. Mitunter ist der Farbton sowohl der Kolonien als auch der Platte jedoch ein violetter, der nach 24—48 Stunden in Blau umschlägt.

Am 18. Mai, also 4 Wochen nach der Untersuchung des 1. Tieres, ist dem Institut nochmals ein verendetes Huhn aus demselben Bestande überbracht worden, das notgeschlachtet worden war. Der Einsender ließ bei dieser Gelegenheit mitteilen, daß ihm nunmehr insgesamt 15 Tiere verendet seien. Im schon erwähnten Nachbargehöft habe sich die Zahl der Todesfälle gleichfalls auf 15 gesteigert.

Zerlegungsbefund: Kadaver eines gut genährten Tieres; Kropf mit Futtermassen gefüllt. In der Leber einzelne graubraun gefärbte Stellen. Darm durch Gase bis zu Dreifingerstärke aufgebläht. Darminhalt von dunkelgrüner, flüssiger Beschaffenheit. Federkleid am After stark mit Kotmassen beschmutzt.

Bakteriologischer Befund: In Ausstrichen einzelne gramnegative Stäbchen.

Herzblutkulturen auf Liebig-Agar, sowie Blau-, Grün-, Endo- und Agarplatten aus den Organen steril bzw. keine verdächtigen Kolonien.

Infektionsversuch: 18. Mai 1915 Henne No. 89 1 ccm Emulsion aus den Organen des eingesandten Tieres intramuskulär. Das Tier erkrankt nicht und wird nach 4 Wochen aus dem Versuch ausgeschieden.

Der Nachweis des Hühnertyphuserregers ist also in diesem Falle nicht gelungen. Der anatomische Befund läßt es wahrscheinlich sein, daß das Tier mit der Krankheit behaftet war.

Soviel über die bei den eingesandten Tieren dieses Bestandes erhobenen Befunde. Die mit dem Material aus dem ersten Huhn angestellten Infektionsversuche an Tieren verschiedener Gattungen seien nunmehr beschrieben:

Hühner: 20. April 1915, Henne 28, intramuskulär 2 ccm Emulsion aus Organen. Am 24. April 1915 verendet das Tier ohne merkliche Krankheitserscheinungen.

Zerlegungsbefund: Lungen, Herz und Nieren ohne Veränderungen. Leber, Milz und Eierstock von zahlreichen, tuberkelbazillenhaltigen Herden durchsetzt. Die Darmschleimhaut weist eine frische, hämorrhagische Entzündung auf.

Bakteriologischer Befund: In mikroskopischen Präparaten verdächtige Erreger nicht nachzuweisen. Auf Liebig-Agar angelegte Herzblutkulturen blieben ebenso wie die aus dem eingesandten Tier angelegten steril. Durch Conradi-Drigalski-Platten konnten Hühnertyphusbazillen jedoch in Reinkultur gezüchtet werden. Die Kolonien zeigten das schon beschriebene, typische Wachstum, hatten aber einen rötlich-violetten Farbton, der erst nach 24 Stunden in Blau umschlug.

22. April 1915, Henne 31, intramuskulär 1 ccm 24-stündige Bouillonkultur des Stammes 616[1]).

26. April Tier schwer krank, schläft viel und hat Durchfall.

28. April Tod des Tieres.

Zerlegungsbefund: Bis auf eine leichte, hämorrhagische Darmentzündung weisen die Organe keine Veränderungen auf.

---

1) In der Folge sind alle Infektionsversuche mit dem Stamm 616 ausgeführt worden, der dem aus dem zuerst eingesandten Huhn entstammenden, bzw. seinen Deszendenten entspricht.

Bakteriologischer Befund: In mikroskopischen Präparaten keine verdächtigen Bakterien.

Auf Liebig-Agarkulturen sowie Blau-, Endo- und Grünplatten zahlreiche Kolonien vom Typus der Hühnertyphusbazillen. Nach ein paar Tagen ist das Zentrum der Kolonien eingefallen, die Randzone wallartig erhaben, die Kolonien erscheinen weniger schleimig als in anderen Fällen.

30. April 1915, Henne 51, 1 ccm Abschwemmung einer Agarkultur intramuskulär.

30. Mai 1915 ist das Tier schwer erkrankt. Es sitzt in auffallend ruhiger, etwas geduckter Stellung und schläft viel. Der Kamm ist abgeblaßt, die Futteraufnahme wird verweigert. Das Huhn entleert hellgelben, flüssigen Kot, der später von blutigem Schleim durchsetzt ist.

6. Mai 1915: Tod des Tieres.

Zerlegungsbefund: Kadaver eines gut genährten Tieres. In der Bauchhöhle finden sich ca. 50 ccm blutige Flüssigkeit.

Bakteriologischer Befund: In mikroskopischen Präparaten keine verdächtigen Mikroorganismen.

Herzblutkulturen auf Liebig-Agar steril. Blau-, Endo- und Grünplatte aus den Organen weisen zahlreiche Hühnertyphuskolonien auf. Auf der Blauplatte wachsen die Kolonien am 1. Tag wieder mit einem rotvioletten Farbton. Nach 24 Stunden färben sich dieselben langsam blau. Auf der Grünplatte wachsen typische Kolonien von gelber Farbe, die den Agar in ihrer Umgebung aufhellen, bzw. entfärben. Das Wachstum auf der Endo-Agarplatte ist wie stets weniger üppig. Die Kolonien sind zwar ebenso zahlreich, aber viel feiner entwickelt.

30. April 1915, Henne 52, zu Henne 51 in den Käfig gesetzt und darin gelassen. Das Tier bleibt gesund.

14. Mai Abschwemmung einer Agarkultur ins Trinkwasser.

22. Juni wird das Huhn mit in Bouillonkultur getränkten Brotkrumen gefüttert. Das Tier erkrankt für ein paar Tage, hat starken Durchfall, erholt sich jedoch wieder und bleibt leben.

15. Mai 1915, Henne 81, ein besonders großes, gut genährtes Tier, $^1/_{10}$ Oese Agarkultur in den Brustmuskel.

Am 18. Mai sieht das Tier traurig aus und frißt ohne Appetit; am 20. Mai ist es schwer krank, hockt auf dem Boden des Käfigs, frißt nicht mehr und hat grüngefärbten, dünnflüssigen Kot. Am 21. Mai ist der Kot gelb und mit blutigem Darmschleim vermischt, der Kamm abgeblaßt.

22. Mai 1915 Tod des Tieres.

Zerlegungsbefund: Kadaver einer gut genährten Henne. In der Bauchhöhle befinden sich 100 ccm einer zitronengelben, wasserklaren Flüssigkeit. Lungen und Herz ohne Veränderungen. Leber vergrößert und von stecknadelkopf- bis kleinerbsengroßen, dunkelroten Knoten durchsetzt, das Gewebe etwas derber als gewöhnlich, Milz geschwollen, die Darmschleimhaut unverändert.

Bakteriologischer Befund: In mikroskopischen Präparaten verdächtige Bakterien nicht nachzuweisen.

Herzblutschrägagarkulturen sowie Blau-, Endo- und Agarplatten weisen typische Hühnertyphuskolonien auf.

20. Mai 1915 Henne 90 $^1/_{100}$ Oese Agarkultur intramuskulär. Das Tier zeigt keinerlei Gesundheitsstörungen.

Tauben: 22. April 1915, Taube 30, intramuskulär 1 ccm 24-stündige Bouillonkultur.

3. Mai 1915 Tod des Tieres.

Zerlegungsbefund: In Ausstrichpräparaten keine verdächtigen Bakterien.

Herzblutkultur und Conradi-Drigalski-Platte typische Hühnertyphuskolonien in mittlerer Zahl. Auf der Blauplatte wachsen diese wieder mit rötlichviolettem Farbton, der nach 24 Stunden in Blau umschlägt.

3. Mai 1915, Taube 60, intramuskulär $^1/_2$ ccm lebenswarmes Herzblut von Taube 30. Das Tier bleibt gesund.

14. Mai 1915, Taube 76 den 8. Teil einer Agarkulturabschwemmung in 1 ccm Flüssigkeit in den Brustmuskel.

Am 19. Mai sieht das Tier traurig aus und frißt nicht, 20. Mai schwer krank, sitzt apathisch da und fliegt nicht mehr auf. Das Tier frißt in der Folge schlecht, sonst keine Erscheinungen, außer fehlender Munterkeit.

30. Mai Tod des Tieres.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Zerlegungsbefund: Die Seite der Brust, an welcher die Impfung erfolgt war, ist vollkommen in Nekrose (Gewebe graugelb und trocken) übergegangen. Die Organe sind unverändert, die Darmschleimhaut hämorrhagisch entzündet. Der Darminhalt besteht aus einer zähen, gelbgefärbten schleimigen Masse.

Bakteriologischer Befund: In Ausstrichpräparaten einzelne gramnegative Stäbchen. Herzblutagarkultur und Blauplatte typische Hühnertyphus-Kolonien.

23. Juni 1915, Taube 34 $^1/_2$ ccm 24-stündige Bouillonkultur intramuskulär.

Das Tier bleibt gesund.

Ente: 5. Mai 1915, Ente 66, 2 ccm 24-stündige Bouillonkultur intramuskulär.

Am 7. Mai ist das Tier schwer krank; es taumelt und kann nicht mehr aufrecht stehen.

9. Mai. Das Tier scheint sich wieder zu erholen.

Am 11. Mai Tod des Tieres.

Zerlegungsbefund: Die Organe lassen Veränderungen nicht erkennen, die Darmschleimhaut ist leicht gerötet. Am After ist das Darmlumen stark erweitert und mit Kotmassen verstopft.

Kaninchen: 30. April 1915, Kaninchen 53, ca. 10 Wochen alt, intramuskulär eine abgeschwemmte Schrägagarkultur.

Bakteriologischer Befund: In mikroskopischen Präparaten einzelne gramnegative Stäbchen. Herzblutkultur und Blauplatte: Spezifische Kolonien.

Am 3. Mai ist das Tier traurig und frißt nicht mehr. 5. Mai Tod des Tieres.

Zerlegungsbefund: Lungen, Herz und Leber zeigen keine Veränderungen. Die Milz ist 5-fach vergrößert, schwarzrot und derb, fast hart. Die Nieren sind vergrößert und mit feinen Blutungen unter der Kapsel besetzt.

Die Darmschleimhaut ist fast in ihrer ganzen Ausdehnung von punkt- bis hanfkorngroßen Blutungen durchsetzt. An einer markstückgroßen Stelle tritt die Rötung flächenhaft auf, an anderen ist die Schleimhaut stark geschwollen. Die Gefäße sind prall mit Blut gefüllt.

Bakteriologischer Befund: In Ausstrichpräparaten gramnegative Stäbchen. Herzblutkultur auf Liebig-Agar: Keine spezifischen Kolonien. Blauplatte: Hühnertyphuskolonien nur aus der Milz zu züchten, dort aber so zahlreich, daß die Bakterien einen dichten Rasen bilden.

5. Mai 1915, Kaninchen 64, intramuskulär 1 ccm Emulsion aus den Organen des Kaninchens 53.

Am 7. April zieht das Tier den Hinterschenkel, an dem die Impfung erfolgt ist, nach sich.

9. Mai Tod des Tieres.

Zerlegungsbefund: An der Impfstelle ist das Gewebe in Nekrose übergegangen. Lungen von etwa halberbsengroßen, nekrotischen Herden durchsetzt, die Herzmuskulatur erscheint wäßrig getränkt. Milz stark geschwollen. In der Leber finden sich nekrotische Herde bis zu Erbsengröße. Darmschleimhaut etwas geschwollen.

Bakteriologischer Befund: In mikroskopischen Präparaten gramnegative Stäbchen. Herzblutkultur auf Liebig-Agar und Kulturen aus den Organen auf Blauplatten: Hühnertyphuskolonien.

5. Mai 1915, Kaninchen 63, 1 ccm 24-stündiger Bouillonkultur intramuskulär.

Am 7. Mai zieht das Tier den geimpften Hinterschenkel nach sich.

10. Mai Tod des Tieres.

Zerlegungsbefund: Das Herz weist zahlreiche Blutungen unter dem Epikard auf. Milz stark geschwollen, derb und schwarzrot, Darmschleimhaut stark geschwollen und zum größten Teil blutig, dunkel- bis schwarzrot-sulzig; an anderen Stellen finden sich punkt- bis stecknadelkopfgroße Blutungen.

Bakteriologischer Befund: In mikroskopischen Präparaten keine Bakterien. Herzblutkulturen auf Liebig-Agar steril, dagegen auf der Blauplatte zahlreiche spezifische Kolonien.

Meerschweinchen: Infektionsversuche an 2 Tieren, die intraperitoneal bzw. intramuskulär mit Bouillonkultur infiziert worden waren, verliefen negativ.

Mäuse: 22. April 1914, Maus 32, subkutan mit $^1/_2$ ccm Bouillonkultur gespritzt.

Am 7. Mai Tod des Tieres. Die Organe sind ohne Veränderungen.

Bakteriologischer Befund: Mikroskopisch keine verdächtigen Bakterien. Auf der Herzblutkultur und der Blauplatte wachsen die charakteristischen Kolonien.

14. Mai 1915, Maus 78, subkutan $^1/_2$ ccm Kulturabschwemmung.

22. Mai. Tod des Tieres.

Zerlegegungsbefund: Milz stark geschwollen, schwarzrot und hart. In der Leber kleine, scharf umschriebene, nekrotische Herde.

Bakteriologischer Befund: Mikroskopisch vereinzelte gramnegative Stäbchen. Herzblutkultur und Blauplatte: Zahlreiche Hühnertyphuskolonien.

Katze: 25. Juni 1916, intraperitoneal 1 ccm 12-stündige Bouillonkultur.

Das Tier ist nach ein paar Tagen krank, frißt sehr schlecht und sitzt apathisch da.

5. Juli. Tod des Tieres.

Zerlegungsbefund: Milz stark geschwollen, Gefäße der Nieren stark injiziert, Darmschleimhaut stark geschwollen, gefaltet, leicht hämorrhagisch entzündet.

Bakteriologischer Befund: Mikroskopisch keinerlei Bakterien. Herzblutkulturen und Blauplatten aus den Organen steril.

Hund: Ein mit 2 ccm 12-stündiger Bouillonkultur subkutan infizierter Hund (Mittelgröße) ist gesund aus dem Versuch ausgeschieden worden.

Der „Bacillus typhi gallinarum“ hat sich somit auch in diesen Versuchen als ein für Hühner gefährlicher Krankheitserreger gezeigt, der bei parenteraler Einverleibung schon in Dosen von $^1/_{10}$ Oese schwere Gesundheitsstörungen (Henne 81) und tödliche Infektionen auszulösen vermag.

Der an einem Tier (Huhn 52) vorgenommene Infektionsversuch per os war negativ verlaufen; der am Huhn 52 führte jedoch zu einer klinisch unter den Erscheinungen des Hühnertyphus einhergehenden Erkrankung, von der, auch mit Rücksicht auf die Inkubationszeit, angenommen werden kann, daß es sich um die Folgen der Fütterungsinfektion handelte. Im übrigen sei auf die Versuche von Pfeiler und Rehse verwiesen, nach denen die Krankheit, wenn der Erreger verfüttert wird, nur bei etwa 50 Proz. der Tiere angeht. Die natürliche Uebertragbarkeit ist im übrigen durch Versuche, die anläßlich des Ausbruches der Krankheit in einem größeren Bestande ausgeführt worden sind, erneut bewiesen worden. Dort soll auch über die günstigsten Infektionsbedingungen berichtet werden.

Für Tauben — auch darin ergibt sich eine Uebereinstimmung mit den Pfeiler-Rehseschen Feststellungen — ist der Erreger nur ausnahmsweise pathogen. Von 4 infizierten Tieren sind nur 2 eingegangen, davon eines erst nach 11 Tagen. Auch bei direkter Infektion mit lebenswarmem Herzblut einer an Hühnertyphus verendeten Taube zeigte eine andere keinerlei Krankheitserscheinungen.

Infektionsversuche in größerem Umfange an Geflügel anderer Art wurden mit Rücksicht auf den augenblicklichen hohen Wert von Geflügel nicht ausgeführt. Lediglich eine Ente konnte von uns intramuskulär infiziert werden. Dieselbe erkrankte, wie mitgeteilt, 2 Tage nach der Impfung und verendete nach 6 Tagen. In den bisher von der Krankheit befallenen Geflügelhöfen sind Enten und Gänse, was betont sei, nach den übereinstimmenden Aussagen der Besitzer stets verschont geblieben. Auch die von Pfeiler und Rehse ausgeführten Infektionsversuche (1 Gans und 1 Ente intramuskulär und subkutan, 2 Enten per os) verliefen negativ.

Dagegen werden Puten, Pfauen und Perlhühner nach Angaben von Hühnerhaltern und auf Grund unserer eigenen Untersuchungen von der Seuche befallen und verenden an ihr.

Kaninchen haben sich in den neueren Versuchen ausnahmslos empfänglich erwiesen; in den Versuchen von Pfeiler und Rehse haben sich dagegen 2 Tiere resistent gezeigt, während Meerschweinchen sowohl in den früheren als auch in den jetzigen Versuchen gänzlich resistent waren.

Weiße Mäuse erlagen neuerdings regelmäßig der Infektion, in den früheren Versuchen widerstanden einige Tiere.

Die an anderen Tieren als den genannten ausgeführten Infektionsversuche sind praktisch bis jetzt belanglos, da sie negativ verlaufen sind.

Die Bakterien, welche aus dem eingesandten Huhn des Sch. isoliert worden sind und zu den aufgeführten Infektionsversuchen gedient haben, besitzen, wie dargetan worden ist, im allgemeinen die gleichen Eigenschaften, wie die in der Arbeit von Pfeiler und Rehse beschriebenen. Die Abweichungen, die sich nach irgend einer Seite hin gezeigt haben, sollen nunmehr kurz besprochen werden.

Uebereinstimmend hat sich für die seinerzeit wie die jetzt gefundenen Erreger ergeben, daß ihre mikroskopische Feststellung Schwierigkeiten bereitet, so daß die Diagnose auf Grund des Ausstrichpräparates allein so gut wie unmöglich ist. Hervorgehoben sei, daß bei dieser Art der Prüfung eine Verwechslung mit Geflügelcholera kaum möglich ist, da der bacilläre Befund hier in der Regel ein ausgesprochener ist; übrigens sind die Erreger der Geflügelcholera bei sonst gleichem morphologischen Verhalten in Organausstrichen erkennbar kleiner als die des Hühnertyphus. Da es aber auch hier Fälle mit atypischem mikroskopischen Bilde, bzw. fast völligem Fehlen der Infektionserreger gibt, so sei bei der Uebereinstimmung, die der Zerlegungsbefund in gewissen Fällen bieten kann (Petechien am Herzen und auf der Darmschleimhaut, Nekrosen in der Leber, Schwellungen der Milz), besonders hervorgehoben, daß die Erreger des Hühnertyphus, wenn sie auf Agar gezüchtet werden, von denen der Geflügelcholera mikroskopisch kaum zu unterscheiden sind, denn sie zeigen sich hier als feine, schwach molekular bewegliche, eiförmige Gebilde mit ausgesprochener Neigung zur Polfärbung, wie sie Pfeiler[1]) bei der Psittakose der Kanarienvögel gleichfalls beobachtet hat. Für die Differentialdiagnose ist in dieser Beziehung das Wachstum auf Agar sowie Conradi-Drigalski-Agar heranzuziehen, auf dem sich die Erreger der Geflügelcholera verhältnismäßig gut entwickeln, wenn er aus Rindfleischagar bereitet wird. Die Hühnertyphusbazillen zeigen aber auf Rindfleisch-, bzw. Conradi-Drigalski-Rindfleischagar, im Gegensatz zu den Geflügelcholerabacillen, das beschriebene charakteristische „schleimige“ Wachstum.

Die Differenzierung auf der sogenannten bunten Reihe ergibt im übrigen weitere Trennungsmerkmale. In dieser Beziehung sei auf die Tabelle I verwiesen, die eine vollständige Uebereinstimmung der von uns anläßlich der vorstehend beschriebenen Versuche isolierten Stämme mit den seinerzeit von Pfeiler und Rehse gezüchteten er-

---

1) Pfeiler, Ueber ein seuchenhaftes, durch Bakterien aus der Paratyphusgruppe verursachtes Kanariensterben. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1911. p. 653—954.)

Tabell

Herkunft des Stammes	Milchzuckerbouillon	Traubenzuckerbouillon	Lackmusmolke Petruschky	Milch	Loefflers Grün-lösungen I	II
Henne Fall 616	leichte Trübung, nach ein paar Tagen Klärung durch Bodensatz, kein Gas		leichte Rötung nach ca. 4 Tagen Umschlag in Blau	ohne Veränderung, Reaktion vorübergehend schwach sauer, spät. alkalisch	giftgrün, Gerinnung, Ausfällung	ohne Ver änderun
Henne 28 Infekt.-Vers.	dgl.		dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
„ 31 „	„		Umschlag in Blau nach 5 Tagen	„	„	„
„ 51 „	„		dgl. nach 4 Tageu	„	„	„
„ 81 „	„		„ „ 5 „	„	„	„
Taube 30 „	„		„ „ 5 „	„	„	„
„ 76 „	„		„ „ 6 „	„	„	„
Ente 66 „	„		„ „ 5 „	„	„	„
Kaninchen 53 „	„		„ „ 5 „	„	„	„
„ 64 „	„		„ „ 5 „	„	„	„
„ 65 „	„		„ „ 5 „	„	„	„
Maus 32 „	„		„ „ 5 „	„	„	„
„ 78 „	„		„ „ 6 „	„	„	„

kennen läßt, auch was den Umschlag der Lackmusmolke in Blau anlangt, der zu der Bezeichnung des Bakteriums „alcalifaciens“ Veranlassung gegeben hatte.

Nur in einer Beziehung ist eine bedeutende Abweichung festgestellt worden, die zwar die Berechtigung der Bezeichnung „alcalifaciens“ in Frage stellt, auf der anderen Seite aber die Angliederung des Bakteriums an die menschlichen Typhusbazillen zu begründen imstande ist. Bei vergleichenden Prüfungen mittels der Petruschkyschen Lackmusmolke (Kahlbaum) und der Seitzschen Ersatzmolke hat sich nämlich gezeigt, daß der Umschlag in Blau öfter nicht erfolgt, wenn letztere gewählt wird. Hier erscheinen also die Stämme noch typhusähnlicher, bzw., wenn man von dem Verhalten in Hetsch-Lösung (Mannit) absieht, biochemisch dem Typhusbacillus gleich; auch Schwefelwasserstoff wird gebildet, Indol dagegen nicht.

Im Anschluß an die Untersuchungen auf der sogenannten bunten Reihe sind sämtliche isolierten Stämme auf ihr Verhalten gegenüber verschiedenen Kohlehydraten bzw. mehrwertigen Alkoholen geprüft worden. Bei allen Stämmen, einschließlich des Pfeiler-Rehseschen, konnte dabei absolute Uebereinstimmung festgestellt werden, so daß auf diese Weise die Möglichkeit gegeben ist, die Erreger unseres Hühnertyphus von allen anderen eventuell in Frage kommenden Vertretern der Coli-Typhusgruppe scharf abzutrennen, was auf Grund seines Verhaltens auf der „bunten Reihe“, wo er z. B. mit nicht-gasbildenden Paratyphus B-Bakterien verwechselt werden kann, sowie agglutinatorisch (s. weiter unten) gewisse Schwierigkeiten macht.

Zu den erwähnten Versuchen ist in der von Magnusson[1]) ange-

---

[1]) Magnusson, Pasteurellose beim Renntier. Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der biologischen Eigenschaften der Pasteurella. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 15. 1914. p. 61.)

Barsiekow-Lösungen I	Barsiekow-Lösungen II	Laktose-Fuchsin-agar nach Endo	Hetsch-Lösung	Traubenzucker-Neutralrot-agar	Gelatine	Liebig-Bouillon	Indol	H_2S
Rötung, Gerinnung, Ausfällung	ohne Veränderung	Stich gut gewachsen, sonst ohne Veränderg.	Rötung, Gerinnung, Ausfällung	Stich gut gewachsen, sonst ohne Veränderung	Stich bandartig, ohne Verflüssigung	leichte Trübung, später Aufhellung durch Bodensatz	kein Indol	lebhafte H_2S-Bildg.
dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
”	”	”	”	”	”	”	”	”
”	”	”	”	”	”	”	”	”
”	”	”	”	”	”	”	”	”
”	”	”	”	”	”	”	”	”
”	”	”	”	”	”	”	”	”
”	”	”	”	”	”	”	”	”
”	”	”	”	”	”	”	”	”
”	”	”	”	”	”	”	”	”
”	”	”	”	”	”	”	”	”
”	”	”	”	”	”	”	”	”
”	”	”	”	”	”	”	”	”

geben Weise gewöhnliche Liebig-Bouillon mit 0,5 Proz. der betreffenden Zuckerarten oder Alkohole versetzt, in Reagenzröhrchen in Mengen von ungefähr 4 ccm Flüssigkeit abgefüllt, beimpft und 48 Stunden bei 37° bebrütet worden. Darauf wurden den gut bewachsenen Bouillonkulturen 4 Tropfen Kahlbaumscher Lackmuslösung zugesetzt. Sofort eintretende intensive Rotfärbung in den Nährsubstraten spricht für Säure. Wo diese nicht vorhanden ist, bleibt der Farbton ein gleichmäßig blau-violetter. In der Tabelle II sind diese Reaktionen mit S (Säure), SG (Säure, Gas) und oV (ohne Veränderung) bezeichnet.

Der 2. Teil der Tabelle umfaßt die Beschreibung des Verhaltens einiger vergleichsweise herangezogener Vertreter der Coli-Typhus-Gruppe, die ein besonders charakteristisches Verhalten zeigen und für die Gruppenbestimmung hauptsächlich in Frage kommen [1]).

Die allgemeine Betrachtung der Tabelle II ergibt, daß Laktose, Saccharose, Raffinose, Erythrit und Adonit von sämtlichen untersuchten Vertretern der Coli-Typhusgruppe nicht angegriffen werden, wie sie überhaupt für die Differenzierung der ganzen Gruppe, mit Ausnahme des Coli-Bacillus nicht in Frage kommen.

Was das Verhalten des Hühnertyphusbacillus betrifft, so läßt derselbe Arabinose und Sorbit unbeeinflußt, während Paratyphus B- und A- sowie Gärtner-Bacillen hier kräftig Säure und Gas bilden. Vom Typhusbacillus, mit dem er zwar das Unvermögen der Gasbildung gemein hat, unterscheidet er sich durch sein Verhalten in Dulcit unter Sorbit, indem der Typhusbacillus Dulcit nicht, dagegen Sorbit unter Säuerung angreift, während der Hühnertyphusbacillus das umgekehrte Verhalten zeigt. Beiden Erregern ist die Eigentümlichkeit, Arabinose nicht zu spalten, gemein. Vom echten Suipestifer ist er, wenn man von dem Gasbildungsvermögen des ersteren absieht, weiter durch sein Verhalten in Dulcit und Sorbit zu trennen; der Suipestifer läßt Dulcit unverändert und bildet in Sorbit Säure und Gas, der Hühnertyphusbacillus säuert Dulcit und greift Sorbit nicht an. In Arabinose bilden Ferkeltyphusbazillen Säure und Gas, in Maltose dagegen nicht. Hühnertyphusbazillen verhalten sich umgekehrt, auch produzieren dieselben in Dulcit und Mannit Säure. während Ferkeltyphusbazillen diese unbeeinflußt lassen.

---

[1]) Diese Aufzeichnungen sind zum Teil Protokollen einer noch nicht veröffentlichten Arbeit von Pfeiler und Engelhardt entlehnt, die an zahlreichen Stämmen aus der Typhus-Coli-Gruppe sowohl als auch Bakterien aus der hämorrhagischen Septikämie Versuche angestellt haben, auf diesem Wege diagnostische Unterscheidungsmerkmale aufzubringen

Tabelle II.

Herkunft des Stammes	Monohexosen				Pentosen			Disaccharide			Trisaccharid	5wertige Alkohole		6wertige Alkohole		
	Fruktose	Galaktose	Glykose	Mannose	Arabinose	Xylose	Rhamnose	Laktose	Maltose	Saccharose	Raffinose	Erythrit	Adonit	Dulcit	Mannit	Sorbit
Typhus gallinarum Pfeiler u. Rehse	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	S	S	oV
Stamm 616 (Roepke)	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	S	S	oV
Henne 28	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	S	S	oV
„ 31	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	S	S	oV
„ 51	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	S	S	oV
„ 81	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	S	S	oV
Taube 30	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	S	S	oV
„ 76	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	S	S	oV
Ente 66	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	S	S	
Kaninchen 53	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	S	S	oV
„ 64	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	S	S	oV
„ 65	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	S	S	oV
Maus 32	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	S	S	oV
„ 78	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	S	S	oV
Typhus	S	S	S	S	oV	S	S	oV	S	oV	oV	oV	oV	oV	S	S
Paratyphus B „ Gärtner „ A	SG	SG	SG	SG	SG	SG	SG	oV	SG	oV	oV	oV	oV	SG	SG	SG
Bac. suipestifer Kunzendorf[1])	SG	SG	SG	SG	oV	SG	SG	oV	SG	oV	oV	oV	oV	oV	SG	SG
Ferkeltyphus	SG	SG	SG	SG	SG	SG	SG	oV	oV	oV	oV	oV	oV	oV	oV	oV

Gewisse Abweichungen gegenüber den von Pfeiler und Rehse erzielten Resultaten haben sich endlich bei den Agglutinationsversuchen (vgl. Tabelle III) ergeben. Vorausgeschickt sei, daß das aus dem Jahre 1912 stammende Hühnertyphusserum „Rehse" die jetzt isolierten Stämme geringer beeinflußte als das mit den unlängst isolierten Bazillen hergestellte, bzw. ein anläßlich einer anderen Hühnertyphusenzootie gewonnenes. Erklärlich ist diese Erscheinung durch den Rückgang des Serumtiters von 5000 auf 2000 infolge der langen Lagerung.

Bei den Versuchen des Jahres 1912 war die stärkste Beeinflussung der Hühnertyphusbacillen durch ein Typhusserum des Sächsischen Serumwerkes mit dem Titer 50000 hervor-

---

1) Wegen der Bezeichnung dieses Bakteriums vgl. die Ausführungen von Pfeiler und Engelhardt, Die Fleischvergiftung in Bobrau. (Mitt. d. Kaiser-Wilhelm-Inst. f. Landwirtsch. zu Bromberg. Bd. 6. 1914. Heft 4. p. 244.)

getreten, ein anderes Typhusserum (Pfeiler, Titer 8000) hatte dagegen Agglutination nur bis zu 800-facher Verdünnung ergeben; ebenso verhielten sich 2 verschiedene Gärtner-Sera mit dem Titer 16000 (Kohlstock) und 8—10000 (Pfeiler). Von den übrigen Seren hatte ein im Institut hergestelltes Paratyphus B-Serum, ein Paratyphus A-Serum des Sächsischen Serumwerkes und ein Ferkeltyphusserum, alle mit Titern über 3000—10000, nur noch schwache Agglutination bei 200 gezeitigt. Die übrigen geprüften Sera griffen die Bazillen nicht an, was besonders für die seinerzeit mit Paratyphus B-Serum des Sächsischen Serumwerkes gemachten Feststellungen betont werden soll.

Im Gegensatz hierzu wurden die neuerdings von uns gezüchteten Hühnertyphusstämme neben dem homologen und den beiden anderen schon erwähnten Hühnertyphusseren durch Paratyphus B- und Gärtner-Serum am stärksten beeinflußt, während eine Agglutination mit Typhusserum nur bei einzelnen Stämmen und höchstens in einer Verdünnung von etwa 4000 sichtbar war.

Während seinerzeit die Agglutinierbarkeit der Hühnertyphusbazillen am stärksten gegenüber Typhusserum hervor- und gegen Paratyphus B- und Gärtner-Serum zurücktrat, war die Beeinflussung bei den jetzigen Prüfungen durch die letztgenannten Sera also hervorstechender. Es kann angenommen werden, daß die seinerzeit beobachteten relativ stärkeren „Typhusagglutinationen“ durch den hohen Titer des damals verwandten Typhusserums bedingt waren und die höchste Grenze der Beeinflußbarkeit von Hühnertyphusbazillen durch menschliches Typhusserum bei genügend langer Beobachtungsdauer bei 4000-facher Verdünnung gegeben ist. Denn es muß beachtet werden, daß sich die Intensität der Reaktionen innerhalb der Ablesungszeit wesentlich verstärkt, wobei auffällt, daß durchgehend das Agglutinationsphänomen bei den Hühnertyphusbazillen zwar auch mit der Dauer der Zeit zunimmt, aber in allen Stadien, was die Größe der agglutinierten Bakterienhäufchen anlangt, viel sinnfälliger ist.

Die Beeinflussung unserer Bakterien durch Paratyphus A-Serum ist nur eine verhältnismäßig schwache (durchschnittlich 800 bzw. 1600). Ebenso konnten bei Prüfung mit einem Mäusetyphusserum keine wesentlich höheren Werte erzielt werden. Keine Beeinflussung fand durch Ruhr- (Shiga- und Flexner-), Ferkeltyphus-, Glässer- und Suipestifer- sowie Pseudotuberkuloseserum statt. Der Vergleich mit Pseudotuberkelbazillen (Pfeiffer) war deswegen herangezogen worden, weil Pseudotuberkulose und Hühnertyphusbazillen biochemisch gewisse Aehnlichkeiten miteinander haben und auch anatomisch bei gewissen Formen des Hühnertyphus (Knötchenbildung in der Milz und anderen Organen) ähnliche Veränderungen vorkommen.

Der Gegensatz im Ausfall der Agglutinationsversuche mit Paratyphus B-Serum seinerzeit und jetzt dürfte sich auf Grund unserer neueren Erfahrungen zwanglos erklären lassen. Die sogenannten Paratyphus B-Bazillen lassen sich nämlich unter Benutzung der auch für unsere Versuche angewandten Zucker- und Alkoholreihen sowie von Ferkeltyphusserum unschwer in zwei Gruppen trennen, von denen die eine, nach unserer Auffassung, dem eigentlichen Paratyphus B-Bacillus, die andere dem Bacillus suipestifer entspricht. Hier sind, soweit die heute vorliegenden, von unserer Seite gesammelten,

Tabelle III.

Herkunft des Stammes	Hühnertyphus Serum I (Engelhardt) Titer 16000			Hühnertyphus Ser. II (Roepke) Titer 8000			Hühnertyphus Ser. III (Rehse) Titer 2000			Typhusserum Titer 16000			Paratyphus B-Serum Titer 16000			Gärtner-Serum Titer 16000		
	2 Std.	12 Std.	24 Std.	2 St.	12 St.	24 St.	2 St.	12 St.	24 Std.	2 St.	12St.	24St.	2 St.	12 St.	24 St.	2 Std	12 Std.	24 Std.
Henne Fall 616	8 000	8 000	.	4000	8 000	.	seinerzeit nicht geprüft			800	1600	.	800	16 000	.	4000	16 000	.
Infekt.-Vers.:																		
Henne 28	16 000	16 000	.	800	8 000	.	200	400	.	400	1600	.	3200	4 000	.	3200	4 000	.
„ 31	16 000+	16 000++	16 000+++	1600	1 600	8 000	200	400	500	1600	1600	1600	3200	3 200	8 000	4000	4 000+	8 000
„ 51	16 000+	16 000++	16 000+++	800	4 000	8 000	500	500	1000	1600	1600	4000	3200	4 000	8 000	3200	16 000+	16 000++
„ 81	16 000	16 000 +	16 000 ++	800	16 000	16 000+	200	500	1000	800	1600	3200	3200	4 000	8 000	1600	8 000	16 000
Taube 30	16 000	16 000 +	16 000 ++	800	4 000	8 000	400	400	500	400	4000	4000	4000	8 000	8 000	3200	8 000	8 000
„ 76	8 000	16 000	16 000 +	3200	8 000	16 000	200	1000	1000 +	800	800	4000	3200	4 000	8 000	800	8 000	8 000
Ente 66	16 000+	16 000++	16 000+++	800	1 600	16 000	200	500	1000	800	3200	4000	800	4 000	8 000	3200 ±	8 000	16 000
Kaninchen 53	16 000+	16 000 ++	16 000+++	800	4 000	8 000	200	400	1000	800	4000	8000	3200	4 000	16 000	1600	16 000	16 000++
„ 64	8 000	16 000	16 000 ++	3200	4 000	16 000	200	400	2000	3200	3200	3200	3200	3 200	3 200	3200	3 200	8 000
„ 65	16 000	16 000 +	16 000+++	400	4 000	16 000	400	500	1000	1600	1600	4000	3200	16 000	16 000	3200	16 000	16 000
Maus 32	16 000	16 000 +	16 000 ++	1600	4 000	8 000	500	1000	2000	400	1600	4000	3200	8 000	16 000	3200	4 000	16 000
„ 78	16 000	16 000++	16 000+++	400	4 000	16 000	500	1000	1000++	1600	3200	3200	1600	1 600	3 200	3200	3 200	8 000

Herkunft des Stammes	Paratyphus A-Serum Titer 16000			Mäusetyphusserum Titer 16000			Psittakose-Serum Titer 8000			Ferkeltyphusser. Titer 40000	Glässer-Serum Titer 20000	Suipestifer Kunzendorf-Serum Titer 16 000	Ruhrserum		Pseudotuberkuloseserum Titer 4000
	2 Std	12 St.	24 Std.	2 St.	12 St.	24 St.	2 Std.	12 Std.	24 Std.				Shiga Titer 2000	Flexner Titer 4000	
Henne Fall 616	400	1600	.	seinerzeit nicht geprüft			400	800	.	von 1000 an —	von 500 an —	von 400 an —	von 20 an —	von 25 an —	von 50 an —
Infekt.-Vers.:															
Henne 28	400	800	.	400	800	.	400±	400	.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
„ 31	400	800	800+	400	800	1600	−200	400	400	„	„	„	„	„	„
„ 51	400±	800	1600	800	3200	3200	400	800 ±	800	„	„	„	„	„	„
„ 81	800	1600	3200	400±	800	1600	400±	400	800	„	„	„	„	„	„
Taube 30	400	400	800	−400	800	800	−200	400	800	„	„	„	„	„	„
„ 76	400	800	800	800±	800	800	400	400	800	„	„	„	„	„	„
Ente 66	400	800	1600	800	800	1600	−200	800	800	„	„	„	„	„	„
Kaninchen 53	400	800	800	800	1600	1600	−200	800	1600	„	„	„	„	„	„
„ 64	800	1600	1600	−400	800	800	400	400	800	„	„	„	„	„	„
„ 65	400	3200	4000	200	4000	4000	200	400	800	„	„	„	„	„	„
Maus 32	−200	400	1600	800±	800	800	−200	400	400+	„	„	„	„	„	„
„ 78	−200	800	1600	400	800	800	−200	400	800	„	„	„	„	„	„

sehr weitgehenden Feststellungen reichen, für die Mehrzahl der Repräsentanten der Paratyphusgruppe konstante und sichere Unterscheidungsmerkmale gegeben. Welcher Art dieselben im einzelnen sind, soll an anderer Stelle erörtert werden. Bezüglich der Hühnertyphusbazillen müssen wir auf folgendes hinweisen. Sowohl bei der Herstellung des seinerzeit verwandten Paratyphus B-Serums des Sächsischen Serumwerkes als auch des Institutsserums müssen Stämme benutzt worden sein, die dem Bacillus suipestifer (Kunzendorf) entsprochen haben. Wie die Tab. III zeigt, werden die Hühnertyphusbazillen durch dieses Serum überhaupt nicht angegriffen, und hierauf dürfte das Ausbleiben der Agglutination in den diesbezüglichen Versuchen von Pfeiler und Rehse zurückzuführen sein. Das neuerdings für die Agglutinationsprüfungen verwertete Paratyphus B-Serum beeinflußt dagegen die Hühnertyphusbazillen stark. Der für dessen Herstellung benutzte Stamm entspricht nach unserer Auffassung dem eigentlichen Paratyphus-B-hominis, der also durch Ferkeltyphus- (und auch Glässer-) sowie Suipestifer-Serum nicht angegriffen wird. Für die Klärung der Verwandtschaftsbeziehungen in der sogenannten Paratyphusgruppe dürfte somit auch das Hühnertyphusserum mit Vorteil herangezogen werden können.

Auf welchen Grund die neuerdings ermittelte Gegensätzlichkeit im Ausfall bei den Gärtner-Agglutinationen zurückzuführen ist, entzieht sich einstweilen noch unserer Beurteilung. Möglich ist, daß für die Herstellung des Gärtner-Serums ein Gärtner-Stamm gebraucht worden ist, der, uns mit der Bezeichnung „Gärtner“ übergeben, überhaupt nicht diesem Typus entspricht. Die Versuche werden nach dieser Seite noch weiter fortgesetzt werden.

In der Tabelle IV haben wir endlich eine Uebersicht über das Agglutinationsvermögen des Hühnertyphusserums gegenüber verschiedenen Vertretern der Typhus-Coli-Gruppe gegeben.

Tabelle IV.

Stamm	Agglutinierendes Hühnertyphusserum Titer 8000	Stamm	Agglutinierendes Hühnertyphusserum Titer 8000
Hühnertyphus	8000 ++	Mäusetyphus	1600
Typhus	negativ	Ratin	1600
Paratyphus B	400	Suipestifer	negativ
Gärtner	400	Ferkeltyphus	„
Paratyphus A	200	Glässer	„
Psittakose	200		

Es ist zu ersehen, daß das Hühnertyphusserum nur den Hühnertyphusstamm bis zur Titergrenze beeinflußt, während die übrigen herangezogenen Vertreter der Coli-Typhus-Gruppe entweder nicht oder nur schwach beeinflußt werden, obgleich, wie wir vorn erläutert haben, die Hühnertyphusbazillen von unserem Paratyphus B- und Gärtner-Serum bis zur Titergrenze agglutiniert werden. Das in dieser Beziehung festgestellte paradoxe Verhalten entbehrt jedenfalls nicht des wissenschaftlichen Interesses.

Nach den von uns gemachten neueren Feststellungen über die von Pfeiler und Rehse erstmalig genauer beschriebene Ursache der Hühnerseuche erscheint es uns angezeigt, die Frage zu diskutieren, ob ihr der seinerzeit beigelegte Name belassen werden kann. Es hat sich gezeigt, daß die früher beobachteten serologischen Beziehungen zum Typhusbacillus des Menschen durch die hohe Wertigkeit des damals benutzten agglutinierenden Serums bedingt waren. Zweifellos sind solche Beziehungen gegeben, sie scheinen uns aber durch diejenigen übertroffen zu werden, die sich gegenüber bestimmten Vertretern der Paratyphus-(Gärtner-)Gruppe im engeren Sinne ergeben. Allein, auf Grund dieses nunmehr erkannten, agglutinatorischen Verhaltens den Namen zu ändern, erscheint uns nicht vorteilhaft. Denn die durch echte Paratyphusbazillen bedingten Erkrankungen bei Hühnern, wie sie sichergestellt sind, machen Anspruch auf diesen Namen. Wir folgen dabei dem Prinzip, das in der Medizin mehr und mehr durchgreift, das aber von einzelnen Vertretern der Tierheilkunde bekämpft zu werden scheint, die Benennung von Krankheiten nach ätiologischen Gesichtspunkten erfolgen zu lassen. Der Name „Hühnertyphus“ kann jedenfalls nach dieser Seite Verwechslungen nicht aufkommen lassen, auch nicht der Name für den Erreger, zufolge seiner weiteren Benennung als „alcalifaciens“.

Die Eigenschaft der Alkalibildung in Lackmusmolke könnte allerdings zunächst dazu führen, den Erreger in die engere Paratyphusgruppe zu stellen. Aber dies will uns besonders deshalb nicht begründet vorkommen, weil, wie wir gesehen haben, aus verschiedenen Tieren isolierte, aber aus einer Ausgangskultur herrührende Stämme des Erregers sich in Seitzscher Lackmusmolke typhusgleich verhalten, allen aber das Vermögen, Traubenzucker unter Gasbildung anzugreifen, abgeht, sie darin also wieder mit dem Typhusbacillus übereinstimmen. Höchstens, daß man den Hühnertyphusbacillus als nicht gasbildenden Paratyphusstamm ansprechen könnte. Streng genommen ist aber diese Unterbringung nicht möglich, da ihm für die Einreihung in die engere Paratyphusgruppe, allerdings auch unter die Typhusbazillen, das eine wichtige Merkmal der Beweglichkeit fehlt, ein Umstand, der ihn den Vertretern der Ruhrgruppe näher bringt, zu der er sonst aber keine bis jetzt aufdeckbaren Beziehungen hat erkennen lassen.

Die Krankheit hat im übrigen auch sonst nichts, was die Benennung mit dem Namen Ruhr rechtfertigen würde. Der Verlauf derselben, bzw. der anatomische Befund bietet allerdings in den meisten Fällen auch keine Analogien zum Typhus des Menschen, wenn man von den Fällen absieht, wo Darmgeschwüre gefunden werden, die an die typhösen erinnern. Auf der anderen Seite werden aber bei vielen Tieren, was wir in besonderen Seuchenausbrüchen gesehen haben, knötchenbildende Vorgänge in der Milz und anderen Organen beobachtet, wie sie bei paratyphösen Erkrankungen als Pseudotuberkel, im übrigen aber auch für den Typhus des Menschen beschrieben worden sind.

Den Namen Hühnertyphoid, der vielleicht unter diesen Umständen der richtigste wäre, glauben wir auch nicht an die Stelle des alten setzen zu können, da er schon für Geflügelcholera gebräuchlich ist. Ob die Schaffung eines neuen Namens zweckdienlich sein würde, will uns, in Würdigung der vorgetragenen Gesichtspunkte, zweifelhaft erscheinen, zumal es uns notwendig dünkt, bei der Wahl einen Ausdruck zu treffen, der auch dem Verständnis des Mediziners im weiteren Sinne nahe liegt. Wir glauben deshalb, den von uns gebrauchten Namen mit Rücksicht darauf, daß der Erreger des **Hühnertyphus** erstmalig von uns in einer Weise beschrieben worden ist, die seine Identifizierung ermöglicht, weiter anwenden zu dürfen, auch wenn der Name „Typhus“, wie wir seinerzeit betont haben, in der Hühnerpathologie schon mehrfach vergeben worden ist. Unseres Wissens hat dies **Lemaistre**[1]) zum ersten Male getan. Auch **Maggiora** und **Valenti**[2]) nennen die von ihnen studierte und durch ein filtrierbares Virus bedingte Krankheit eine „Seuche von exsudativem Typhus“. **Rivolta** und **Delprato** unterscheiden den exsudativen Typhus vom Hektyphus, diesen wieder vom kruppösen, gangränösen und hämatischen Typhus der Hühner.

Identifizierungen mit den von **Lemaistre** bzw. den letztgenannten Autoren beschriebenen Typhuserkrankungen dürften jedoch schwierig sein, da hier der Differenzierung nur die pathologisch-anatomischen Befunde zugrunde gelegen haben. Dazu kommt, daß die von ihnen vorgeschlagenen Bezeichnungen sich nicht eingebürgert haben.

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über Culiciden.

[Aus dem Hygienisch-parasitologischen Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio.**

Mit 1 Figur im Text.

Die folgenden Beobachtungen wurden in der Umgebung von Lausanne, und zwar besonders in Vidy (378 m) und den Wäldern von Sauvabelin (647 m), Revéréaz (678 m) und von Epalinges (800 m), von Ende Oktober 1915 bis dahin 1916 gemacht.

a) Beobachtungen in den verschiedenen Jahreszeiten.

1) Vidy: Die Larven von Culicinen und Anophelinen waren im Winter 1915/16 sehr zahlreich, da die Pfützen nur im November und Januar einige Tage mit Eis bedeckt waren. Am 9. Nov. 1915 (Lufttemp. + 12°, Wassertemp. + 11°) habe ich noch eine Puppe von Th. annulata (große Form) gefunden. Auch die Larven von Sayomyia haben überwintert.

Ende Februar und in den Monaten März und April waren viele Pfützen ausgetrocknet und die Culicidenlarven selten geworden. Aber im feuchten Moose einer dieser Pfützen habe ich doch am 14. März 1916 lebende Larven von A. bifurcatus und Culex gefunden.

---

[1]) **Lemaistre**, Epizootie (typhus) des gallinacés observée dans la Haute-Vienne en 1864. (Rec. de méd. vét. 1869. p. 376—389.)

[2]) **Maggiora** u. **Valenti**, Ueber eine Seuche von exsudativem Typhus bei Hühnern. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 42. p. 185—243.)

Am 21. April 1916 (Lufttemp. + 15°, Wassertemp. + 11°) habe ich die ersten jungen Larven von Culicinen und einige Larven und eine Puppe von A. maculipennis gefunden. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß auch Larven von A. maculipennis überwintert haben.

Vom Juni bis September 1916 waren die Culicidenlarven in den meisten Pfützen von Vidy sehr selten, aber in einer einzigen davon von 7 × 4 m mit einer Wasserschicht von 10—20 cm konnte ich im Juli, August und September tausende und abertausende Larven und Puppen von C. pipiens sammeln.

Im September und Oktober waren die Larven von C. nemorosus, Th. annulata und A. bifurcatus in den Pfützen von Vidy sehr zahlreich. So konnte ich z. B. am 24. Sept. 1916 (Lufttemp. + 16°, Wassertemp. + 12°) in einer kleinen Pfütze von 20 × 40 cm mit einer Wasserschicht von 4 cm mit 5 Weißblechsiebstrichen 366 Larven und Puppen sammeln. Am 29. Okt. 1916 (Lufttemp. + 14°, Wassertemp. + 10°) habe ich sehr junge Larven von Culex gefunden, die sehr wahrscheinlich erst einige Tage vorher ausgeschlüpft waren, sowie sehr zahlreiche Larven von A. bifurcatus. In Wäldern und im Schilfe flogen viele Weibchen von Th. annulata und C. nemorosus, die mich aber nicht gestochen haben.

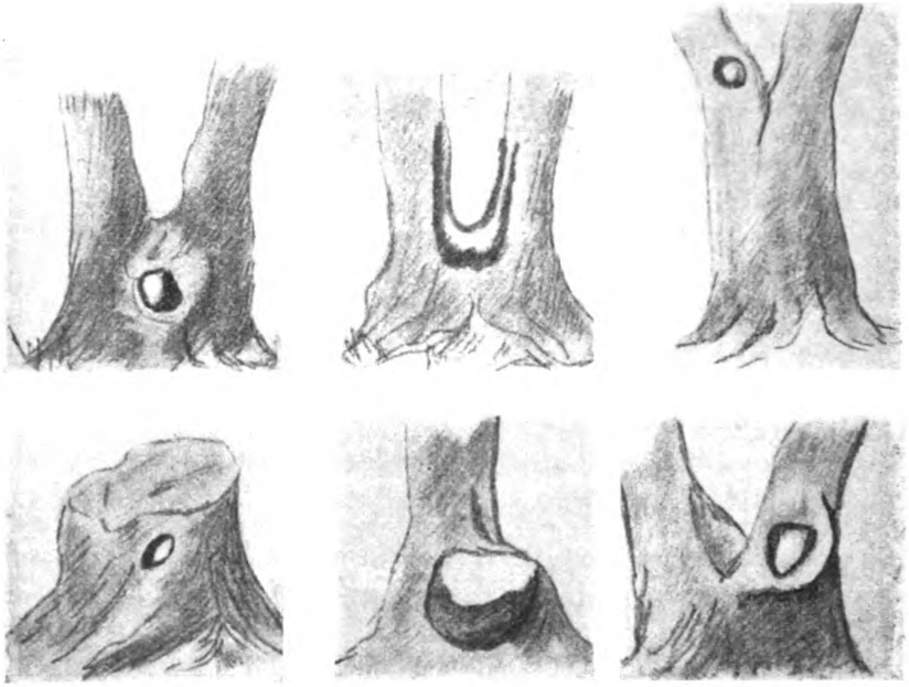


Fig. 1.

b) Wälder von Sauvabelin, Revéréaz und Epalinges.

1916 habe ich zu verschiedenen Zeiten Untersuchungen über A. nigripes und C. ornata gemacht.

Im Winter 1915/16, wo das Wasser der Baumhöhlungen einige Tage mit Eis bedeckt war, habe ich die Larven dieser 2 Arten immer gefunden. Sehr junge Larven von A. nigripes und C. ornata habe ich im Walde von Revéréaz am 23. April und 7. Mai 1916 beobachtet. Erst am 19. Juli (Lufttemp. + 17°, Wassertemp. + 16°) habe ich aber im Walde von Sauvabelin die ersten Puppen dieser 2 Arten gefunden, während im Sommer und Herbst die Larven und Puppen dieser Arten häufig waren. Im Walde von Epalinges habe ich bis jetzt nur C. ornata gefunden und mit den Larven von C. ornata und von A. nigripes immer auch sehr zahlreiche von Chironomus. Es ist wahrscheinlich, daß auch die Larven von Culicoides pulicaris in solchen Baumhöhlungen leben, wurde ich doch im Walde von Revéréaz, wo Pfützen fehlen, am 7. Mai 1916 (Lufttemp. + 18°) von vielen Imagines dieser Art gestochen!

c) Beobachtungen über die Brutplätze der Culiciden.

Auch 1916 ist eine Pfütze in Vidy, die mit Lemna ganz bedeckt war, ganz frei von Culicidenlarven geblieben, wogegen eine kleine Stelle, wo Lemna fehlte, zahlreiche Larven von A. bifurcatus und Th. annulata enthielt, ein Beweis, daß nicht das Wasser, sondern seine Bedeckung mit Lemna die Entwickelung der Larven verhindert hat.

Daß kleine Wassermengen für die Entwickelung der Culiciden gefährlicher sind als große Sümpfe, habe ich wieder in Estavayer, 459 m (Kanton Freiburg) bemerkt. Diese Stadt, die 27 m über dem Neuenburger See liegt, ist im Sommer von Culiciden geplagt. Ich habe daher die Brutplätze untersucht und in den großen Sümpfen am Ufer des Sees, die vom Winde sehr bewegt werden, nur 1 Larve von A. maculipennis gefunden, während in kleinen Pfützen, Fässern zum Begießen der Gemüse und in einem Wasserreservoir in der Stadt die Larven und Puppen von Culiciden sehr zahlreich waren. Also müssen Städte, die die Mückenplage bekämpfen wollen, anstatt viel Geld zur Beseitigung großer Sümpfe in der Umgebung auszugeben, besser die kleinen Wassermengen in Gärten, Hofräumen usw. beseitigen.

In Vidy konnte ich bemerken, daß das Zuschütten der Pfützen sehr gute Resultate bei der Mückenbekämpfung hat, aber nur, wenn die Pfützen ganz mit Kehricht oder mit Erde ausgefüllt worden sind. Bleibt auch nur eine sehr kleine Stelle mit stehendem Wasser, so wimmelt es darin von Larven und Puppen der Culiciden, wie ich in einer kleinen Pfütze von 20 × 40 cm, von der ich schon gesprochen habe, beobachtete. Ganz in der Nähe von einer anderen, zugeschütteten Pfütze, lag ein emaillierter, mit Wasser gefüllter Behälter, in welchem ich sehr viele Larven und Puppen von Th. annulata gefunden habe.

Sehr interessant sind die Brutplätze von C. ornata und A. nigripes in den Baumhöhlungen (Fig. 1 zeigt verschiedene Höhlungen in Buchen). Im Walde von Rovéréaz habe ich in einem Stock, der nur 8½ cm hoch war und eine Höhlung besaß, die in der Mitte 6 × 9½ cm maß und eine Wasserschicht von 5 cm enthielt, viele Larven von C. ornata und A. nigripes gefunden. Sehr oft ist das Wasser ganz dunkelgelb; es enthält Gerbstoff. Im Walde von Sauvabelin, wo sich auch viele Pfützen finden, habe ich nie die C. ornata und A. nigripes beobachtet. Diese 2 Arten entwickeln sich also nur in Baumhöhlungen, wie dies auch identische und ähnliche Arten in Indien und Amerika tun. So lebt nach Christophers, der übrigens meine früheren Arbeiten nicht kennt, A. barianensis in Indien mit anderen

Culiciden in Baumhöhlungen[1]; sie ist der A. barberi aus Amerika sehr ähnlich und vielleicht damit identisch, die auch in Baumhöhlungen lebt, und ganz identisch mit A. nigripes (nach Christophers Syn. von A. plumbeus). In einer anderen Mitteilung beschreiben Christophers und Khazan Chand[2] eine andere Anopheline, A. culiciformis, die in Indien auch nur in Baumhöhlungen lebt.

Die Kenntnis der Verbreitung dieser Culiciden ist sehr wichtig für die Beurteilung vieler Mückenplagen und Krankheiten, die Culiciden verbreiten an Oertlichkeiten, wo stehende Gewässer fehlen.

Zum Auffinden der Larven von C. ornata und A. nigripes im Wasser von Baumhöhlungen empfehle ich die Zeißsche binokulare Lupe, weil diese Larven sehr oft sehr klein sind und sehr gern im Bodensatz versteckt bleiben.

d) Beobachtungen über die Biologie und die Verbreitung der Culiciden.

1) Biologie. 1916 wurde ich weder in Vidy, noch in meinem Laboratorium von Th. annulata gestochen, die sich wahrscheinlich daran gewöhnt haben, in Vidy an Tieren, anstatt an Menschen zu saugen.

In meiner letzten Mitteilung[3] habe ich bemerkt, daß Weibchen von C. pipiens und Th. annulata, die im Juli 1915 ausgeschlüpft waren, noch im Oktober in Schränken und Töpfen mit Wasser und Mielline lebten. Viele von diesen Weibchen haben überwintert, und einige (C. pipiens) haben bis zum 12. Juni 1916 gelebt, aber keines hat Eier abgelegt. Im Sommer 1916 habe ich wieder viele Weibchen und Männchen von C. pipiens, C. nemorosus und Th. annulata in einen großen, mit Drahtnetzen verschlossenen Schrank gesetzt, in den Mielline und Wasser gestellt war, aber Eierablage habe ich hier nicht bemerkt.

Immer mehr habe ich beobachtet, daß die Larven und Puppen von C. ornata und A. nigripes das Licht meiden. Setzt man die Behälter an die Sonne oder an elektrisches Licht, so verschwinden die Larven und Puppen sehr schnell im Bodensatz.

In einem Behälter mit Wasser aus einer Baumhöhlung von Sauvabelin, das am 25. Sept. 1915 entnommen war, entwickelten sich die Imagines von C. ornata und A. nigripes bis zum 25. Mai 1916. Die Weibchen und Männchen dieser 2 Arten sterben, wenn sie nur Wasser erhalten, in 4—5 Tagen, während sie bei Wasser und Mielline 11—15—20 und 30 Tage am Leben bleiben (Lufttemp. + 19—20°).

2) Verbreitung. Ueber die Verbreitung der Culiciden in der Schweiz kann ich folgendes mitteilen:

Larven von A. maculipennis habe ich in Estavayer (459 m, Kanton Freiburg) gefunden, wo nach Dr. Thürler vor einigen Jahren Malaria aufgetreten war. Fräulein Dr. Elkind hat mir Puppen von C. ornata geschickt, die in einer Baumhöhlung oberhalb Aigle (Kanton Waadt) am 28. Mai 1916 gefunden worden waren.

Larven und Puppen von C. nemorosus habe ich in Pfützen gefunden: a) Im Walde von Chemin des Paysans (Jorat, Kanton Waadt.

---

[1] Ind. Journ. med. Res. Vol. 3. 1916. p. 489.

[2] Ind. Journ. med. Res. Vol. 3. 1916. p. 638.

[3] Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. p. 90.

910 m); b) am Fuße des Molésons (Kanton Freiburg, 1400 m), am 25. Juni 1916; c) auf der Straße von Chemin nach Pierre à Voir (Kanton Wallis, 1300 m) am 23. Juli 1916; d) Wälder von Gasternholz (Gasterental, Kanton Bern, 1365 m) am 9. Aug. 1916.

Die Larven und Puppen von letzterem' Orte waren schwarz, die Imagines kleiner und schwärzer als die sonstigen Formen, mit etwas braunen Flügeln.

Die Weibchen von C. nemorosus in den 4 oben genannten Gegenden haben mich sehr gestochen.

Lausanne, 4. November 1916.

Nachdruck verboten.

Ueber Klärung der Fleischextraktgelatine.

[Mitteilung aus dem staatlichen Hygienische Institut zu Hamburg (Direktor: Prof. Dr. Dunbar).]

Von Prof. Dr. **H. Noll.**

Die Klärung der Fleischextraktgelatine wird in der Regel mit Eiweiß vorgenommen. Bei den zurzeit hohen Eierpreisen und auch in Rücksicht darauf, daß man die Eier möglichst für Ernährungszwecke benutzen sollte, lag es nahe, nach einem Ersatzmittel für die Klärung der Gelatine zu suchen. Nach verschiedenen von mir angestellten Versuchen hat sich dafür Magnesiumkarbonat als brauchbar erwiesen. Es wird hierbei folgendermaßen verfahren: Die trübe Gelatine wird pro Liter mit 5 g möglichst feinen Magnesiumkarbonats vermischt, eine halbe Stunde im Dampftopf erhitzt und dann mittels eines Heißwassertrichters filtriert. Die so erhaltene Gelatine hat in der Regel eine Alkalität, die 0,2—0,3 Proz. wasserfreier Soda entspricht. Sie wird dann mit Schwefelsäure so weit neutralisiert, daß sie die gewünschte Alkalität behält. Für Choleranährböden ist unter Umständen eine Neutralisation gar nicht erforderlich. Würden z. B. für 50 ccm Gelatine 20 ccm $^1/_{10}$ N-Schwefelsäure zur völligen Neutralisation erforderlich sein, so würden, um eine Gelatine von 0,05 bis 0,07 Proz. zu erhalten, 20 weniger 7, also 13 ccm und für 1 l 260 ccm $^1/_{10}$ N-Schwefelsäure zugesetzt werden müssen. Zum Neutralisieren benutzt man dann besser $^1/_1$ N-Schwefelsäure, also 26 ccm, um die Gelatine nicht zu stark zu verdünnen. Die geringe Trübung, die die Gelatine nach der Filtration meistens noch aufweist, wird durch den Zusatz der Schwefelsäure fast ganz beseitigt. Die reichliche Menge an Magnesiumsulfat, die sich bei der Neutralisation bildet, scheint das Wachstum der Keime nur in geringem Maße zu beeinflussen.

Die Herren Dr. Gaehtgens und Dr. Keiser am hiesigen Institut haben Versuche über die Brauchbarkeit der Gelatine angestellt, wobei sich ergeben hat, daß sie für Züchtung von Typhus-, Paratyphus-,

Digitized by Google | Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Gärtner- und Ruhrbakterien sowie Choleravibrionen brauchbar ist. Alle Keime zeigten gutes Wachstum, in der Cholerakultur trat typische Verflüssigung auf. Bei Versuchen, die Gelatine für Wasserplatten zu verwenden, bei denen auch zum Vergleich Eiweißgelatine benutzt wurde, ergaben 109 Versuche 96 gut übereinstimmende Zahlen, 9 Platten stimmten nicht überein, in 4 Fällen war die Uebereinstimmung weniger gut. Mehrfach zeigte es sich, daß sich auf der neuen Gelatine die Keime weniger gut abgetrennt entwickelten, als auf der Eiweißgelatine, was sich besonders bei den Versuchen zeigte, wo die Temperatur des Reinwassers höher lag; bei niedriger Temperatur waren die Keime gut zählbar.

Auf Grund der obigen Befunde glaube ich, die Klärung der Gelatine mit Magnesiumkarbonat empfehlen zu können. Eine Nachprüfung würde erwünscht sein.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Galli-Valerio, B., Beobachtungen über Culiciden, S. 139.

Knorre, Felix, Zur Praxis und Theorie des Malachitgrünnährbodenverfahrens für den Nachweis von Typhus- und Paratyphus-Bakterien im Stuhl. Vergleich dieses Verfahrens mit dem Petrolätherverfahren, S. 114.

Lehmann, Ernst, Zur Kenntnis des Paratyphus A. II. Das Verhalten und die Variabilität des B. paratyphosus A in Mannitnutroselösung nach Barsiekow-Hetsch, S. 97.

Noll, H., Ueber Klärung der Fleischextraktgelatine, S. 143.

Pfeiler, Willy, und **Roepke, Erika**, Zweite Mitteilung über das Auftreten des Hühnertyphus und die Eigenschaften seines Erregers, S. 125.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 79. Heft 4.

Ausgegeben am 31. März 1917.

Nachdruck verboten.

Ueber die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen und serologischen Typhusdiagnose.

[Aus dem Hygienischen Institut in Kiel (stellvertretender Direktor: Prof. Dr. Ludwig Bitter) und der Medizinischen Klinik (stellvertretender Direktor: Prof. Dr. Walter Frey).]

Von **Max Heinrich Kalthoff**, Assistenten der Medizinischen Klinik.

Mit 2 Kurven im Text.

In Bd. 78, S. 231 des Centralblattes für Bakteriologie etc., Abt. I, Origin., veröffentlicht K. E. F. Schmitz eine Arbeit „Die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen Typhusdiagnose, gemessen an den Untersuchungsergebnissen bei der Typhusepidemie in Jena 1915“.

Die Gesamtzahl der bei dieser Epidemie beobachteten Fälle belief sich auf 537 mit 60 Todesfällen, von denen die meisten nicht in Privatbehandlung blieben, sondern den eigens hierzu errichteten Seuchenkrankenhäusern überwiesen wurden. Aus diesen Spitälern wurde fast alles Untersuchungsmaterial eingesandt. Schmitz nennt das Material dieser Epidemie ein fast ideales zum Zwecke der Feststellung der Leistungsfähigkeit der augenblicklich gebräuchlichen Verfahren für die bakteriologische Typhusdiagnose: „Eine stattliche Anzahl Kranker, die, sämtlich aus derselben Infektionsquelle infiziert, fast alle in Krankenhausbehandlung lagen und die, sofern überhaupt, alle an einer einzigen Untersuchungsstelle bakteriologisch untersucht wurden.“

Die von Schmitz mitgeteilten Untersuchungsergebnisse bleiben zum Teil weit hinter den von anderer Seite bei anderen Epidemien und Einzelfällen ermittelten zurück, was Schmitz mit der lakonischen Aeußerung zu erklären sucht, daß die bisher veröffentlichten zahlreichen Feststellungen immer nur besonders günstige Ergebnisse wiedergeben. Er glaubt, aus seinen bei der Jenaer Epidemie gemachten Erfahrungen einen allgemeinen Schluß auf die mittlere Leistungsfähigkeit der gebräuchlichen bakteriologischen und serologischen Typhusdiagnoseverfahren ziehen zu dürfen, weil ihm, wie schon oben angeführt, eine so große Anzahl von an derselben Ansteckungsquelle infizierten Patienten zur Verfügung stand; weil diese, sofern überhaupt, alle an derselben Untersuchungsstelle bakteriologisch untersucht wurden, und weil er, seiner Meinung nach, die besten und sichersten bekannten Untersuchungsmethoden zur bakteriologischen Diagnosestellung herangezogen hat. Da dieser letzte Punkt für meine weiteren Ausführungen von großer Wichtigkeit ist, sei das von Schmitz über seine Untersuchungsart zusammenfassend Mitgeteilte hier wörtlich wiederholt:

> „Die eingesandten Stühle wurden zunächst in etwas Kochsalzlösung verrieben, sodann zuerst auf einer Lentz-Tietzschen Malachitgrünplatte und weiter auf Drigalski- und Endo-Platten ausgestrichen. Nach 24 Stunden wurden die Malachitgrünplatten vorsichtig abgeschwemmt und ein Tröpfchen der Abschwemmung auf

Drigalski- und Kongorotplatten verrieben. Es wurden also zur Diagnose dreierlei Plattenarten und eine Anreicherungsmethode benützt. Die auf diesen Platten verdächtig erscheinenden Kolonien wurden abgeimpft und nach 24 Stunden einer Probeagglutination in einer Verdünnung eines hochwertigen Typhusserums 1 : 10 unterzogen. Fiel diese Agglutination positiv aus, so wurde der betreffende Stamm auf die Coli-Reihe zur Untersuchung seiner Vergärungsfähigkeit gebracht und eine quantitative Agglutination bis zur Titergrenze des Serums angesetzt. War beides positiv, so wurde der Stamm als Typhusstamm anerkannt. Bei Einsendung von Urin wurde in der gleichen Weise verfahren. Bei Einsendung von Blut wurde, wenn es in genügender Menge vorhanden war, das Serum zur Anstellung der Widalschen Probe benutzt. Zu ihrer Ausführung wurde ein schwer agglutinabler, jedoch echter Typhusstamm in Anwendung gebracht, um mißdeutende Ergebnisse auszuschließen. Als positiv wurde nur gute Agglutination bei Titer 1 : 100 angenommen. Der Blutkuchen wurde zerteilt und in Gallebouillon bei 37° bebrütet. Nach 24 Stunden wurde die Gallebouillon auf Typhusbazillen in der üblichen Weise untersucht. Bei den späteren Untersuchungen wurde die Bebrütung der Gallebouillon dann noch nach 24 Stunden fortgesetzt und nochmals auf Typhusbazillen untersucht."

Von dem verwendeten Kongorot-Agar nimmt Schmitz auch, unter Berufung auf Schürmann (1), an, daß er sich als einer der vorzüglichsten Elektivnährböden für Typhusbakterien erwiesen hat, eine Meinung, der allerdings inzwischen von Gelhaar (2) entschieden widersprochen ist.

Es ist bekannt, daß die bakteriologische und serologische Typhusdiagnose bei einzelnen, besonders auch bei leichten Fällen, auf außerordentlich große Schwierigkeiten stößt, und daß mit gelegentlichen vollständigen Versagern bei den heute gebräuchlichen Verfahren gerechnet werden muß. Derartig niedrige positive Zahlen jedoch, wie Schmitz sie mitteilt, stehen in einem solchen Mißverhältnis zu allem bisher über die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen Untersuchungsmethoden Bekannten, daß es sich, meiner Ansicht nach, wohl lohnte, Schmitz' Angaben an einem größeren Material von Typhuskranken, das ebenfalls in Krankenhausbehandlung und unter klinisch-wissenschaftlicher Aufsicht sich befand, und dessen bakteriologische und serologische Untersuchung ebenfalls an einer Stelle stattfand, nachzuprüfen. Daß es sich um Kranke handelte, die während eines längeren Zeitraumes (innerhalb 6 Jahren) behandelt und untersucht wurden, und daß diese Kranken sich nicht, wie die der Jenaer Epidemie, an einer Ansteckungsquelle infiziert hatten, sondern auf verschiedene Weise mit verschiedenen Typhusbakterienstämmen angesteckt waren, erachte ich den Feststellungen Schmitz's gegenüber nicht als einen Nachteil, sondern als einen entschiedenen Vorteil. Den Vorwurf, den Schmitz gegen die bisher veröffentlichten bakteriologischen Untersuchungsergebnisse erhebt, daß sie nur besondere Verhältnisse wiedergeben, kann man den von ihm ermittelten wenigstens mit gleichem Rechte entgegenhalten: seine niedrigen positiven Zahlen können auf eine besonders schwere Züchtbarkeit und Agglutinierbarkeit des die Jenaer Epidemie bedingenden Typhusbakterienstammes zurückzuführen sein. Das von mir nachgeprüfte Material weist diesen Fehler sicher nicht auf, da es sich zusammensetzt aus Kranken nicht nur eines Ortes, sondern weiterer Kreise der Provinz Schleswig-Holstein, in der der Typhus jahraus, jahrein in recht stattlicher Menge vorzukommen pflegt, und da aus diesem Grunde und wegen des ausgedehnten Zeitraumes der Beobachtung, wie gesagt, eine Ansteckung mit den verschiedensten Typhusbakterienstämmen angenommen werden muß.

Das Prüfungsmaterial für die nachfolgenden Feststellungen lieferten die Kranken, die während des Zeitraumes 1910—1916 wegen klinisch

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

sicheren Typhus sich in stationärer Behandlung der **medizinischen Klinik** der Universität **Kiel** befanden. Die verschiedenen Daten: Aufnahme und Entlassungstag, Beginn der Erkrankung, Ergebnisse der bakteriologischen und serologischen Untersuchungen, wurden aus den Krankengeschichten, die ich während annähernd 2 Jahren selbst geführt habe, ermittelt. Aus den diesen Krankengeschichten im Original angehefteten Mitteilungen des Hygienischen Institutes konnten auch die Tage der gemachten Untersuchungen mit Sicherheit festgestellt werden. Wie schon erwähnt, wurden nur die an einem klinisch sicheren Unterleibstyphus leidenden Kranken berücksichtigt; bei fast allen diesen Kranken wurde nach Auftauchen des Typhusverdachtes in jeder Woche eine oder mehrere der üblichen bakteriologischen und serologischen Untersuchungen des Blutes, Stuhls und Urins vorgenommen. Leider sind nicht in jeder Woche **sämtliche** Untersuchungen angestellt, wie man es von den Fällen einer Statistik verlangen müßte, die ein vollständig klares Bild über den Wert der einzelnen Methoden geben sollte. Von einer solchen idealen Statistik müßte man verlangen, daß bei dem ganzen Material jede Woche alle Untersuchungsmethoden, Blutzucht, Agglutinationsprüfung, Stuhl- und Urinuntersuchung, angewandt wären, damit man ersehen könnte, in welch großer Anzahl und in welchen Wochen positive Befunde aufzuweisen sind. Das Untersuchungsmaterial (Blut, Stuhl und Urin) wurde in der Regel rasch nach seiner Entnahme resp. Entleerung dem Hygienischen Institut übergeben, das unmittelbar neben der Typhusbaracke liegt, so daß bis zu Beginn der dortigen Untersuchungen im allgemeinen höchstens einige Stunden verstrichen. Es wurde darauf geachtet, daß nur Proben von frisch gelassenem Stuhl und Urin verwandt wurden. Das Blut wurde durch Venenpunktion in ca. 5—7 ccm fassenden Röhren aufgefangen und ohne weitere Behandlung dem Hygienischen Institut überwiesen. Die verschiedenen Proben wurden dort folgendermaßen untersucht:

A. **Blutproben.**

Abzentrifugieren oder Absitzenlassen des Serums zwecks Agglutinationsprüfung.

I. **Agglutinationsprüfung**: Mit wenigstens 2 möglichst verschiedenen Typhusbakterien- und einem Paratyphus B-Bakterienstamm in Serumverdünnungen 1:30 bis 1:200 makroskopisch in Röhrchen nach 2 Stunden Bebrütung. Positives Ergebnis: deutliche Agglutination mindestens eines Stammes in einer Serumverdünnung 1:100; wahrscheinliches Ergebnis: deutliche Agglutination beider Typhusbakterienstämme oder des Paratyphus B-Bakterienstammes in einer Verdünnung 1:50; zweifelhaftes Ergebnis: deutliche Agglutination eines Stammes in einer Serumverdünnung 1:50 oder beider Typhusbakterienstämme in einer Serumverdünnung 1:30. Negativ: alle übrigen Befunde.

II. **Blutzüchtung**: Aussaat der Hälfte des Blutkuchens auf große **Drigalski-, Endo-** oder einfache **Bitter**-Platten nach **Müller-Gräf** (3); der zweiten Hälfte des Blutkuchens in Röhrchen mit steriler Rindergalle, Bebrütung während 18—24 bis 48 Stunden und nachherige Aussaat auf irgendeine kleine Platte der vorhin genannten 3 Nährböden.

B. **Stuhlprobe.**

Aussaat auf 3 **Bittersche Chinablaumalachitgrünplatten** und eine **Lenzsche Malachitgrünplatte** (Paratyphus B-Bakterienzüchtung) (4).

C. Urinproben.

Aussaat auf eine kleine Chinablaumalachitgrünplatte und eine ebensolche Chinablauagarplatte (4).

Identifizierung etwa gewachsener verdächtiger Kolonien in Neutralrottraubenzuckeragar, Chinablaumolke (2), Peptonwasser (Indolbildung) und durch spezifische Agglutinationsprüfung. In zweifelhaften Fällen auf Reiner-Müllers Rhamnoseagar.

Von Verarbeitung von Blut, das mittels Venenpunktion sofort am Krankenbett in Galleröhrchen überführt wurde, konnte in einer größeren Anzahl von Fällen ein Vorteil gegenüber der Untersuchung des in Galle angereicherten Blutkuchens nicht erblickt werden, weshalb dieses Verfahren nach einiger Zeit aufgegeben wurde. Auch die Verwendung von Gallebouillon zeigte keine nennenswerten besseren Ergebnisse als der Gebrauch von einfacher steriler Rindergalle, weswegen von Verwendung von Gallebouillon nach kurzer Zeit ebenfalls Abstand genommen wurde.

Die Gesamtzahl der von 1910 bis 1916 in der medizinischen Klinik stationär behandelten sicheren Typhusfälle betrug 221. Diese Fälle waren in Tabellen (Ia und Ib) angeführt. In den einzelnen Rubriken der Tabelle Ia wurden die Anfangsbuchstaben der Patientennamen verzeichnet, Aufnahme- und Entlassungs-, resp. Todestag, der Beginn der Erkrankung, der ohne größere Schwierigkeiten und mit ziemlicher Sicherheit aus den sorgfältig geführten Krankengeschichten ermittelt werden konnte, ferner die Resultate der Blutzüchtung und Agglutination, nach Wochen geordnet, während der ersten 7 Wochen. Bei den Blutzüchtungen wurde außerdem die zur Zeit der Blutentnahme bestehende Temperatur notiert. Tabelle Ib war analog für Stuhl- und Urinuntersuchungen angeordnet für 6 Wochen, nur war hier eine Rubrik für die durch Tabelle Ia festgestellten positiven Blutzucht- und Agglutinationsbefunde eingeschaltet, und zwar waren die ersten positiven Blutzucht- und Agglutinationsbefunde verzeichnet; falls positive Befunde bei stattgehabter Untersuchung nicht vorlagen, war eine 0 eingetragen. Aus diesen beiden Tabellen, deren von mir an dieser Stelle beabsichtigte Veröffentlichung nach einer Mitteilung des Verlages wegen Raummangels zurzeit leider unterbleiben muß, lassen sich eine Anzahl Resultate ersehen, die ich zwecks leichterer Vergleichung in ähnlicher Tabellenform, wie Schmitz sie verwandte, anführe. Dabei sind die Verhältniszahlen der positiven Untersuchungen einmal bezogen auf die Gesamtzahl der stattgehabten Untersuchungen in den einzelnen Wochen, das andere Mal auf die Gesamtzahl der in den einzelnen Wochen untersuchten Kranken.

Tabelle II.

Verhältnis der positiven Stuhluntersuchungen zur Gesamtzahl der Stuhluntersuchungen in den einzelnen Wochen.

Woche	Gesamtzahl		Positive Befunde		Prozente	
	Stuhl	Urin	Stuhl	Urin	Stuhl	Urin
1	32	31	7	5	21,8	16,1
2	103	101	31	9	30,1	8,9
3	136	135	35	15	25,8	11,1
4	149	139	26	24	17,4	17,1
5	144	143	24	19	16,6	13,3

In Tabelle II wurden, geordnet nach den einzelnen Wochen, die Stuhl- und Urinuntersuchungen in ihrer Gesamtzahl während 5 Wochen und die sich unter ihnen befindenden positiven Befunde ermittelt und eingetragen, sowie das Verhältnis der positiven Befunde zur Gesamtzahl, in Prozenten ausgedrückt, festgestellt. Es wurden hier, wie in den folgenden Tabellen, nur die ersten 5 Wochen berücksichtigt, weil nach dieser Zeit die Einsendungen nicht mehr den Zweck der Diagnosenstellung hatten. Wie man durch Vergleich mit Tabelle I der Schmitzschen Arbeit an der oben angeführten Stelle S. 237 leicht ersieht, komme ich zu wesentlich anderen und besseren Resultaten. Während in der 1. Woche die Prozente der positiven Stuhluntersuchungen etwas unter den von Schmitz angegebenen bleiben (Schmitz 23,33 Proz., Kalthoff 21,8 Proz.), steigen sie bei mir in der 2. Woche auf 30,1 Proz. (Schmitz 10,71 Proz.), wobei zu berücksichtigen ist, daß mir, wie aus der Tabelle zu ersehen ist, eine fast doppelt so große Gesamtzahl von Untersuchungen (103 gegenüber 56 bei Schmitz) zur Verfügung stand. Auch in den folgenden Wochen ist der Unterschied ein bedeutender (3. Woche 25,8 Proz., Schmitz 13,23 Proz.; 4. Woche 17,4 Proz., Schmitz 10,57 Proz.; 5. Woche 16,6 Proz., Schmitz 2,41 Proz.). Die Gesamtzahl der Untersuchungen in der 2.—4. Woche ist bei mir größer, während in der 5. Woche Schmitz 21 Untersuchungen mehr zur Verfügung standen; trotzdem hatte er in der 5. Woche bei 165 Stuhluntersuchungen nur 4 positive Befunde, während in meiner Statistik von 144 Untersuchungen noch 24 positiv ausfielen. Die für positive Urinuntersuchungen in der Tabelle gefundenen Prozentzahlen lassen sich leider nicht mit denen von Schmitz vergleichen, da bei der Jenaer Epidemie zu wenig Urine während der ersten 5 Wochen zur Untersuchung gelangten.

Besonders deutlich ist aus dieser Tabelle II und aus der folgenden Tabelle III zu ersehen, daß der Schluß, den Schmitz aus seiner geringen Zahl positiver Befunde zieht, nämlich daß, „je weiter der Kranke sich mit der Zeit von seinem Erkrankungstag entfernt, desto geringer die Ausbeute der Untersuchung wird“, nicht berechtigt ist. In meiner Tabelle über Stuhluntersuchung steigt der Prozentsatz der positiven Befunde in der 2. Woche, um in der 3. gegenüber der 2. und in den folgenden Wochen auch gegenüber der 1. Woche etwas zu fallen. In der Tabelle über Urinuntersuchung fällt die Prozentzahl in der 2. Woche um fast die Hälfte, steigt in der 3. Woche, erreicht einen höheren Wert in der 4. Woche als in der 1. und geht erst in der 5. wieder etwas zurück.

Wenn auch zugegeben werden muß, daß die von mir beobachtete Ausbeute positiver Befunde bei Stuhl- und Urinuntersuchung im Vergleich zu den meisten bisherigen Feststellungen nur in der 1. Woche eine relativ große ist, während sie in den übrigen Wochen zum Teil weit hinter den von anderen Autoren erzielten zurückbleibt, so ist sie doch in meiner Tabelle über Stuhluntersuchung in der 2. und 3. Woche, für Urinuntersuchungen in der 4. Woche größer als in der 1., ein Befund, der sich prinzipiell mit den früheren Erfahrungen deckt. Zum Vergleich sei hier eine Uebersichtstabelle über positive Stuhlbefunde aus der vorzüglichen Monographie: „Typhus abdominalis“ von Gaehtgens im 18. Jahrgang der bestbekannten „Ergebnisse der allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie des Menschen und der Tiere“ von Lubarsch-Ostertag mitgeteilt:

Untersucher	Zahl der positiven Befunde in der			
	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
Bohne	0 Proz.	23 Proz.	43 Proz.	100 Proz.
Gaethgens u. Brückner	57 „	53 „	77 „	50 „
Bitter	11,1 „	50 „	88,8 „	50 „
Bongartz	25 „	64,3 „	75 „	55,5 „
Weißkopf	27 „	73 „	91 „	71 „

Man muß, wie es nach diesen Befunden selbstverständlich ist, der Forderung Schmitz', daß auch in der 1. Woche schon in größerem Umfange Stuhl- und Urinuntersuchungen zwecks Diagnosestellung herangezogen werden, zustimmen. Auch darin stimmt wohl jeder erfahrene Arzt mit ihm überein, daß die bakteriologische Diagnose des Typhus, wenn sie nur durch Stuhl- und Urinuntersuchung gestellt werden würde, eine sehr wenig befriedigende wäre, eine Tatsache, die ja längst bekannt ist, wie denn auch bei meinem Material von 221 Fällen, das doch nur, entsprechend den bisherigen Ansichten über den Wert der bakteriologischen Diagnose, klinisch untersucht wurde, kein Fall, bei dem nur Stuhl- und Urinuntersuchung gemacht wurde, zu finden ist.

Tabelle III.

Verhältnis der aus der Stuhluntersuchung positiv befundenen Kranken zur Gesamtzahl der auf Stuhl untersuchten Typhuskranken in den einzelnen Wochen.

Woche	Gesamtzahl		Positive Befunde		Prozente	
	Stuhl	Urin	Stuhl	Urin	Stuhl	Urin
1	30	29	7	5	23,3	17,6
2	94	91	27	9	28,7	9,8
3	124	121	34	15	27,4	12,4
4	119	104	22	22	18,4	21,1
5	128	127	23	17	17,9	13,4

Auch Tabelle III unterscheidet sich im wesentlichen, was ihre Resultate anbetrifft, nicht von Tabelle II. Auch aus ihr lassen sich dieselben Schlußfolgerungen ziehen, wie aus der vorigen Tabelle. Man kann aus ihr außerdem aber bei einem Vergleich mit Tabelle II noch finden, ebenso wie in den Schmitzschen Tabellen, daß die Zahl der überhaupt gemachten Untersuchungen zu der Zahl der Kranken, von denen das Untersuchungsmaterial stammte, in keinem zu argen Mißverhältnis steht.

Tabelle IV.

Verhältnis der positiven Blutuntersuchungen zur Gesamtzahl der Blutuntersuchungen in den einzelnen Wochen.

Woche	Gesamtzahl	Positive Befunde	Prozente
1	66	42	63,6
2	119	66	55,4
3	87	39	44,9
4	59	10	16,7
5	45	7	15,5

In Tabelle IV wurden wochenweise während der ersten 5 Wochen die Gesamtzahl aller vorgenommenen Blutzüchtungen eingetragen, die unter ihnen sich befindenden positiven Befunde, sowie das Verhältnis von ihnen zur Gesamtzahl, in Prozenten ausgedrückt, ermittelt. In der folgenden Tabelle V sind in analoger Weise die positiven Befunde

Tabelle V.

Verhältnis der aus den Blutuntersuchungen positiv befundenen Kranken zur Gesamtzahl der auf Blut untersuchten Kranken in den einzelnen Wochen.

Woche	Gesamtzahl	Positive Befunde	Prozente
1	65	41	63,0
2	109	65	59,0
3	86	39	45,3
4	58	10	17,2
5	43	6	13,9

und die Gesamtzahl der Blutzüchtungen, berechnet auf die durch Blutzüchtung erkannten Typhuspatienten, vermerkt. Wie aus beiden Tabellen hervorgeht, bin ich auch hier zu einem erheblich besseren Resultat als Schmitz gekommen. In Tabelle IV verhalten sich die Schmitzschen Prozentzahlen zu den meinen:

1.	Woche	Schmitz	36,95	Proz.,	Kalthoff	63,6	Proz.
2.	„	„	28,12	„	„	55,4	„
3.	„	„	10,52	„	„	44,9	„
4.	„	„	14,28	„	„	16,7	„
5.	„	„	0,0	„	„	15,5	„

In Tabelle V:

1.	Woche	Schmitz	37,77	Proz.,	Kalthoff	63,0	Proz.
2.	„	„	28,12	„	„	59,0	„
3.	„	„	11,76	„	„	45,3	„
4.	„	„	14,28	„	„	17,2	„
5.	„	„	0,0	„	„	13,9	„

Die Gesamtzahl der Untersuchungen ist bei meiner Aufstellung eine bedeutend höhere, als bei Schmitz, so in Tabelle IV:

1.	Woche	Schmitz	46,	Kalthoff	66
2.	„	„	32,	„	119
3.	„	„	19,	„	87
4.	„	„	7,	„	59
5.	„	„	7,	„	45

In Tabelle V:

1.	Woche	Schmitz	45,	Kalthoff	65
2.	„	„	32.	„	109
3.	„	„	17,	„	86
4.	„	„	7,	„	58
5.	„	„	7,	„	43

Das Verhältnis der Gesamtzahlen von Tabelle V zu Tabelle IV ist bei Schmitz und mir wieder annähernd das gleiche.

Wie Schmitz selbst zugibt, sind die von ihm in der 4. und 5. Woche gefundenen Prozentzahlen, wegen der geringen Gesamtzahl der Untersuchungen, nicht geeignet, ein klares Bild zu geben. Aber wenn ich in der 1. und 2. Woche ein fast doppelt so günstiges, in der 3. Woche sogar ein 4mal so günstiges Resultat fand, so kann diese Differenz nicht nur in den niedrigeren Gesamtzahlen Schmitz' liegen. Wie Schmitz auf S. 249 selbst sagt, führt er seine niedrigen Prozentzahlen zum Teil auf die ihm nur zur Verfügung stehende kleine Blutmenge zurück. Bei dem von mir bearbeiteten Krankenmaterial wurden dagegen seit 1913 fast stets 5—7 ccm Blut eingesandt. Vor 1913 mußte sich das Untersuchungsamt auch oft mit kleinen Blutmengen, die mittels der bekannten Kapillaren entnommen wurden, begnügen. Ein weiterer Vorteil konnte ferner dadurch wohl gewonnen werden, daß zwischen Entnahme des Materials und seiner Verarbeitung eine nur geringe Zeitspanne lag, wie oben des näheren ausgeführt ist. Indessen sind nach persönlicher Mitteilung Prof. Bitters an mich die im Kieler Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten erzielten positiven Blutzüchtungen auch aus kleinen und von weither eingesandten Blutproben bei weitem nicht so spärlich wie die von Schmitz mitgeteilten. Eine exakte statistische Bearbeitung dieses Materials, die aus manchen Gründen, z. B. wegen genauer Ermittelung des Krankheitsbeginnes der nicht in klinischer Behandlung stehenden, durch die ganze Provinz verbreiteten Kranken naturgemäß auf große Schwierigkeiten stößt, wird wahrscheinlich in nächster Zeit vorgenommen werden.

Wesentlich günstiger noch erscheinen die Resultate der Blutzüchtung, wenn man, wie es seit 1914, dem Zeitpunkt, wo Prof. Bitter die Leitung des Untersuchungsamtes übernahm, dort geschehen ist, die Galleröhrchen nach 24 Stunden nochmals 24 Stunden bebrütet. Schmitz führt dieses Verfahren auch auf S. 234 an, jedoch ohne anzugeben, ob es ihm nicht auch auf diese Weise gelang, bessere positive Resultate zu erzielen.

Der Erfolg dieser Methode zweimaliger Aussaat ist leicht ersichtlich, wenn man die Tabellen IVa und IVb betrachtet. In Tabelle IVa sind entsprechend Tabelle IV die Gesamtzahl, Zahl der positiven Befunde und die Prozentzahl eingetragen, jedoch nur seit Januar 1914. Die Prozentzahl steigt hier in der 1. Woche auf 85,7 Proz., eine Zahl, die fast ideal zu nennen ist und sich mit den Erfahrungen Schottmüllers (5) u. a. deckt; in der 2. Woche beträgt sie noch 65,3 Proz. gegenüber 59,0 Proz. in Tabelle IV. In der 3. Woche fällt sie, um in der 4. und 5. Woche wieder erheblich anzusteigen, jedoch ist die Gesamtzahl der Untersuchungen hier eine so niedrige, daß die Werte wohl nicht als beweisend zu betrachten sind.

Tabelle IVa.

Verhältnis der aus den Blutuntersuchungen positiv befundenen Kranken zur Gesamtzahl der auf Blut untersuchten Kranken in den einzelnen Wochen von 1914 an.

Woche	Gesamtzahl	Positive Befunde	Prozente
1	21	18	85,7
2	49	32	65,3
3	28	10	35,7
4	12	4	33,3
5	—	—	—

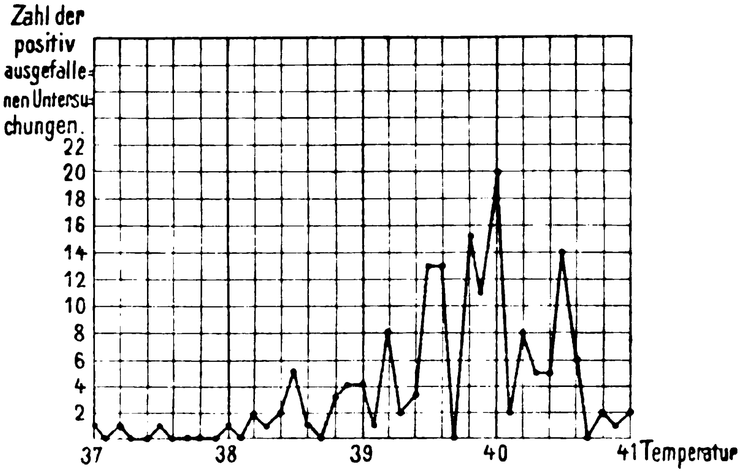
Noch deutlicher wird der Vorteil dieses Verfahrens in Tabelle IVb ersichtlich. Es sind hier aus dem Journal des Untersuchungsamtes die,

Tabelle IVb.

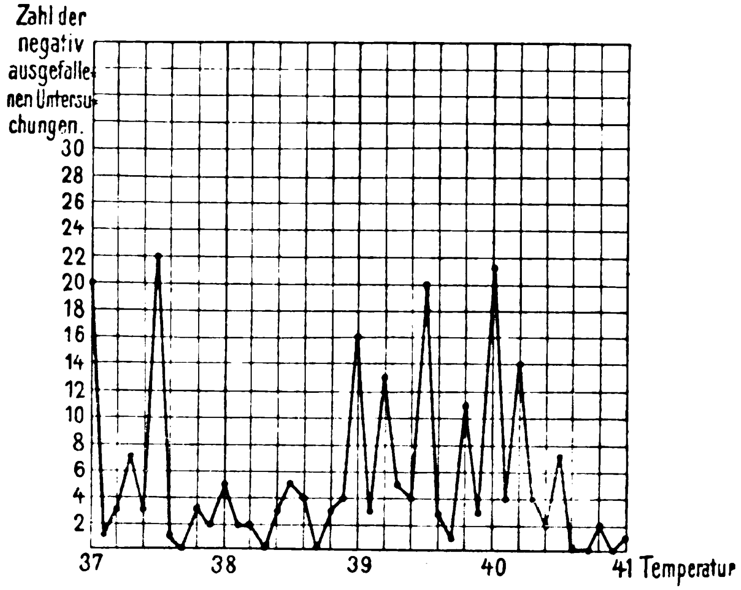
Name des Patienten	Datum	1. Aussaat	2. Aussaat
M. K.	11. Juli	—	Typhus +
M. H.	29. „	—	„ +
M. K.	1. Aug.	—	„ +
A.	1. „	—	„ +
A.	5. „	—	„ +
A. F.	10. „	—	„ +
C. Z.	15. „	—	„ +
K.	29. „	—	„ +
A. G.	11. Okt.	—	„ +
R. S.	20. „	—	Paratyphus +
D. D.	4. Nov.	—	Typhus +
J. F.	30. Okt.	—	„ +
M. C.	6. Dez.	—	„ +

während des letzten halben Jahres (11. Juli bis 6. Dez. 1916) mit dem verlängerten Bebrütungsverfahren behandelten Blutzüchtungen angeführt, in denen nach 24-stündiger Bebrütung ein negatives, nach 48 Stunden jedoch ein positives Resultat erzielt wurde. Es wurden also in $^1/_2$ Jahre 13 Fälle mehr diagnostiziert, als mit dem früheren Verfahren möglich gewesen wäre.

Aus den Tabellen IV und V lassen sich nun folgende Schlüsse ziehen: I. Die positiven Blutzüchtungsbefunde nehmen, wie auch schon früher angenommen, ab, je weiter der Patient sich von seinem Erkrankungstage entfernt. II. Im Gegensatz zu Schmitz' Resultaten ist festzustellen, daß, besonders bei Anwendung des 48-stündigen Bebrütungsverfahrens, die Aussicht, in der 1., 2. und 3. Woche die Diagnose durch positive Blutzüchtung zu stellen, eine recht erhebliche ist (85,7 Proz. in der 1., 65,3 Proz. in der 2. Woche). III. Wie schon Schmitz anführt, ist die Menge des eingesandten Blutes von großer Wichtigkeit. Vielleicht würden die Resultate auch noch bessere, wenn man nach dem Verfahren von Müller und Gräf (3) das zur Untersuchung bestimmte Blut durch Zusatz von Hirudin am Gerinnen hinderte oder nach Schmitz' etwas umständlichem Vorschlage das Blut gleich nach der Entnahme durch Schütteln mit sterilen Glaskügelchen defibrinierte. Vielleicht ist auch die Zeitspanne, nach der das entnommene Blut bearbeitet wird, nicht ganz unwesentlich.



Kurve 1.



Kurve 2.

Um zu erkennen, ob und inwieweit die Aussicht, Typhusbazillen aus dem Blute zu züchten, abhängig ist von der zur Zeit der Blutentnahme bestehenden Körpertemperatur, wurden die Tabellen IVc (Kurve 1) und IVd (Kurve 2) aufgestellt aus den in Tabelle Ia bei den positiven und negativen Blutzüchtungsbefunden eingetragenen Temperaturen. Aus Tabelle IVc ersieht man, daß bei einer Temperatur von 37—38°

die Ausbeute an positiven Befunden außerordentlich gering ist, daß sie zwischen 38° und 39° etwas größer wird, zwischen 39° und 40° erheblich ansteigt, um bei 40° ihr Maximum zu erreichen. Tabelle IVd zeigt, daß die Zahl der negativ ausfallenden Blutzüchtungsversuche bei einer Temperatur von 37°—38° eine recht beträchtliche ist, daß sie jedoch nicht bei einer Temperatur von 39°—40° zurückgeht, wie man es nach Tabelle IVc erwarten sollte, sondern daß sie bei diesen Temperaturen im Gegenteil sehr groß ist. Man ist wohl berechtigt, hieraus den Schluß zu ziehen, daß eine Temperatur von 39°—40° als die zur Blutentnahme geeignetste anzusehen, daß jedoch auch bei diesen Temperaturen mit einer erheblichen Anzahl von Versagern zu rechnen ist.

Tabelle VI.

Verhältnis der positiven Widal-Untersuchungen zu der Gesamtzahl der Widal-Untersuchungen in den einzelnen Wochen.

Woche	Gesamtzahl	Agglutination		Prozente der Agglutination	
		$^1/_{100}$ u. mehr	$^1/_{50}$—$^1/_{100}$	$^1/_{100}$ u. mehr	$^1/_{50}$—$^1/_{100}$
1	66	27	4	40,9	6,0
2	117	59	11	50,4	9,3
3	88	52	6	59,0	6,8
4	59	34	6	57,6	10,2
5	45	33	4	71,7	8,7

In Tabelle VI ist, nach Wochen geordnet, die Gesamtzahl der angestellten Agglutinationsproben während der ersten 5 Wochen eingetragen, ihre positiven (1 : 100 und mehr) und ihre wahrscheinlich positiven (1 : 50—1 : 100) Resultate sowie die entsprechenden Prozentzahlen.

Tabelle VII.

Verhältnis der mit der Widal-Reaktion positiv befundenen Kranken zur Gesamtzahl der nach Widal untersuchten Typhuskranken in den einzelnen Wochen.

Woche	Gesamtzahl	Agglutination		Prozente der Agglutination	
		$^1/_{100}$ u. mehr	$^1/_{50}$—$^1/_{100}$	$^1/_{100}$ u. mehr	$^1/_{50}$—$^1/_{100}$
1	65	27	4	41,5	6,1
2	109	56	11	51,4	10,0
3	86	51	6	59,3	6,9
4	57	33	6	57,9	10,5
5	45	33	4	73,3	8,9

In Tabelle VII ist dasselbe in bezug auf die Anzahl der Kranken, bei denen positive oder wahrscheinlich positive Agglutinationen vorkamen, ermittelt.

In diesen beiden Tabellen erhalte ich erheblich niedrigere Prozentzahlen für positive Befunde wie Schmitz; so in Tabelle VI:

1.	Woche	Schmitz	62,81	Proz.,	Kalthoff	40,9 Proz.
2.	„	„	74,46	„	„	50,4 „
3.	„	„	85,71	„	„	59,0 „
4.	„	„	84.61	„	„	57,6 „
5.	„	„	70,0	„	„	71,7 „

in Tabelle VII:

1.	Woche	Schmitz	66.07	Proz.,	Kalthoff	41,5 Proz.
2.	„	„	75,26	„	„	51,4 „
3.	„	„	86,95	„	„	59,3 „
4.	„	„	84,61	„	„	57.9 „
5.	„	„	66,66	„	„	73,3 „

Die Gesamtzahl der Untersuchungen und dementsprechend die absolute Zahl der positiven Befunde ist bei mir, abgesehen von der

1. Woche, bedeutend höher als in der Statistik Schmitz', so daß die 4. und 5. Woche, entgegen der Schmitzschen Tabelle, mitzuverwerten ist. Man sieht in Tabelle VI und VII einen stetigen Anstieg der Prozentzahl, mit Ausnahme der 4. Woche, wo ein geringer Abfall zu verzeichnen ist. Wenn man diesen Abfall von 1,4 Proz. unberücksichtig läßt, erkennt man den Anstieg der positiven Befunde in dem Maße, wie der Patient sich von seinem Erkrankungstage entfernt; dieses Resultat deckt sich mit dem von Schmitz und den früher darüber bestehenden Ansichten. Auffallend ist die relativ hohe Prozentzahl in der 1. Woche, auch wenn sie nicht so hoch ist wie die Schmitz'. Meine Schmitz' Aufstellung gegenüber ungünstigen Resultate möchte ich darauf zurückführen, daß es sich bei meinem Material um Kranke handelte, die sich, wie schon gesagt, mit den verschiedensten Typhusbakterienstämmen angesteckt hatten, so daß eine Agglutinationsprüfung mit fremden Stämmen fast in jedem Falle vorgenommen wurde. Leider hat Schmitz nicht angegeben, woher er seinen zur Agglutination benutzten Stamm erhielt, er führt nur auf S. 234 an, daß er einen sicheren, aber schwer agglutinablen Stamm verwandte. Sollte derselbe aus der Jenaer Epidemie stammen, so sind dadurch seine günstigen Resultate der Agglutination leicht zu erklären.

Aus Tabelle VI und VII ersieht man, I. daß die Zahl der positiven Agglutinationsbefunde mit Zunahme der Krankheitszeit steigt; II. daß auch schon in der 1. Woche die Prozentzahl für positive Befunde recht groß ist, so daß das übliche Verfahren, stets gleich in der 1. Woche die Agglutinationsprobe anzustellen, durchaus berechtigt ist; III. daß, besonders in den späteren Wochen, auch wenn man nicht, wie es Schmitz vielleicht getan hat, unter besonders günstigen Verhältnissen arbeitet, die Agglutinationsprobe einen wertvollen Beitrag zur Diagnosestellung bietet. Hierzu muß allerdings bemerkt werden, daß während des Krieges und auch wohl noch längere Zeit nach dem Kriege die genannte serologische Diagnosestellung wegen der zahlreichen und bei den verschiedensten Bevölkerungsklassen ausgeführten Typhusschutzimpfungen weniger sicher und verwertbar ist.

In Tabelle VIII ist so verfahren worden, daß aus den Fällen meines Materials diejenigen zusammengestellt wurden, die mit den gebräuchlichen bakteriologischen und serologischen Untersuchungsmethoden allein oder durch die aus ihnen möglichen Kombinationen diagnostiziert wurden. Es wurden immer die Befunde einer Woche, und zwar die ersten positiven, die ja zur Diagnosestellung genügten, berücksichtigt. Ferner habe ich in der letzten Rubrik die bis zu den ersten positiven Befunden gemachten, negativ ausfallenden Untersuchungen, ihrer Art nach gesondert, aufgezählt. Die nach dem ersten positiven Befunde positiven und negativen Ergebnisse weiterer Untersuchungen, die aus klinischem Interesse, oder um die Bakterienfreiheit des Patienten zu ermitteln, gemacht wurden, habe ich unberücksichtigt gelassen.

Zuerst ist hervorzuheben, daß nur 10 von 221 sicher klinisch Typhuskranken, d. h. nur 4,5 Proz. aller Fälle, durch keine der Untersuchungsmethoden gefaßt worden sind, während aller Wochen ihrer Krankenhausbehandlung; ferner daß nur 6 von 221 Fällen, d. h. 2,7 Proz., erst nach der 5. Woche festgestellt wurden. Daraus folgt, daß während der ersten 5 Wochen 92,8 Proz. der untersuchten Fälle durch die bakteriologische und serologische Untersuchungsmethode sicher diagnostiziert wurden. Noch günstiger erscheint dieses Resultat, wenn man berück-

Tabelle VIII.

Bakteriologisch-serologisch wurde die Diagnose gestellt durch	Zahl der positiven Befunde	Prozent	1. Woche				2. Woche				3. Woche				4. Woche				5. Woche				Bis zum 1. positiven Befunde wurden negative Untersuchungen gemacht			
			Blutzucht	Agglutination	Stuhl	Urin	Blutzucht	Agglutination	Stuhl	Urin	Blutzucht	Agglutination	Stuhl	Urin	Blutzucht	Agglutination	Stuhl	Urin	Blutzucht	Agglutination	Stuhl	Urin	Blutzucht	Agglutination	Stuhl	Urin
Blutzucht allein	30	13,6	10	.	.	.	12	.	.	.	4	.	.	.	4	.	.	.	.	.	.	.	9	9	2	2
Agglutination allein	35	15,8	.	4	.	.	.	7	.	.	.	10	.	.	.	12	.	.	.	2	.	.	4	3	3	3
Stuhluntersuchung allein	7	3,1	.	.	.	.	.	.	3	.	.	.	1	.	.	.	1	.	.	.	3	.	7	7	4	4
Urinuntersuchung allein	1	0,4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Blutzucht und Agglutination	54	24,4	12	12	.	.	19	17	.	.	18	14	.	.	3	7	.	.	2	4	.	.	6	6	2	2
Blutzucht und Stuhluntersuchung	8	3,6	2	.	.	.	5	.	4	.	1	.	2	.	.	.	1	.	.	.	1	.	0	0	0	0
Blutzucht und Urinuntersuchung	2	0,9	1	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	1	.	.	.	1	.	.	.	.	0	0	1	1
Agglutination und Stuhluntersuchung	6	2,7	.	.	.	.	.	3	1	.	.	3	3	.	.	.	.	.	.	.	2	.	1	1	0	1
Agglutination und Urinuntersuchung	3	1,3	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	2	.	3	.	.	.	.	2	1	1	0
Stuhl- und Urinuntersuchung	0	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Blutzucht, Agglutination und Stuhluntersuchung	23	10,4	4	.	2	.	14	14	3	.	4	5	8	.	1	3	5	.	.	1	5	.	2	2	1	1
Blutzucht, Agglutination und Urinuntersuchung	3	1,3	1	1	.	.	2	2	.	.	.	.	.	1	.	.	.	2	.	.	.	.	1	0	2	0
Blutzucht, Stuhl- und Urinuntersuchung	7	3,1	4	.	1	1	3	.	5	5	.	.	1	1	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	0	0
Agglutination, Stuhl- und Urinuntersuchung	9	4,1	.	1	1	.	.	2	1	1	.	4	3	5	.	2	2	1	.	.	2	2	2	1	0	0
Blutzucht, Agglutination, Stuhl- und Urinuntersuchung	17	7,7	8	8	2	3	4	5	6	2	3	4	4	3	.	.	4	5	1	.	1	4	0	0	0	0
Bakteriologisch und serologisch nicht festgestellt während aller Wochen	10	4,5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Nach der 5. Woche festgestellt	6	2,7	durch	Blutzucht Agglutination Stuhluntersuchung Urinuntersuchung						1 4 0 1																

sichtigt, daß von den 10 stets negativen Fällen 3 in der 1., 4 in der 2., und je 1 in der 3., 4. und 6. Woche zum erstenmal zur Untersuchung gelangten. Nach Angabe Schmitz' auf S. 245 gelang diese Diagnose während der Jenaer Epidemie jedoch nur in 61,47 Proz. Dieses sehr wenig befriedigende Resultat Schmitz' ist wohl tatsächlich zum Teil auf die unzweckmäßige zeitliche Einsendung des Untersuchungsmaterials zurückzuführen, von der er auf S. 235 spricht. Da zu jeder Diagnosestellung aber die richtige Anwendung aller zu Gebote stehenden Hilfsmittel von größter Wichtigkeit ist, so ist, meiner Ansicht nach, Schmitz schon aus diesem Grunde nicht berechtigt, seine ungünstigen Resultate als allgemein gültig und als über die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen Typhusdiagnose entscheidend anzusehen.

Wären bei meinem Material jede Woche sämtliche Untersuchungsmethoden zur Anwendung gekommen, so würde Tabelle VIII eine sehr gute Uebersicht über den Wert der einzelnen Methoden und ihre Kombination geben. Leider sind jedoch nicht alle bakteriologischen und serologischen Untersuchungsmöglichkeiten in dieser exakten Weise jede Woche benutzt, so daß ich diese Tabelle, außer wegen des eben angeführten Grundes, als Wiederholung der früheren Tabellen in anderer Form beigebe. Wenn man die Resultate der einzelnen Wochen in ihre Komponenten zerlegt, wird man dasselbe Bild gewinnen, wie aus Tabelle II—VII. Immerhin erscheint es nicht ganz ohne Interesse, daß die größte Zahl der Diagnosen durch die Kombination: Blutzucht und Agglutination gestellt wurde (24,4 Proz.), daß dann die durch Agglutination allein gestellten mit 15,8 Proz. und die durch Blutzucht allein gestellten mit 13,6 Proz. folgen. Verhältnismäßig groß ist die Zahl der negativen Untersuchungen, die bis zum 1. positiven Befund gemacht wurden; so z. B. bei 30 Diagnosen durch Blutzucht 22 negative Befunde, die sich allerdings aus allen 4 Untersuchungsmethoden zusammensetzen; die zu den anderen Rubriken gehörigen negativen Untersuchungsbefunde lassen sich leicht aus der Tabelle ersehen.

Tabelle IX.

Zuerst untersucht in der	Gesamtzahl	Fälle mit positivem Befund	Verhältnis der Fälle mit positivem Befund zu der Gesamtzahl	Bakteriologisch-serologisch wurde die Diagnose gestellt durch														
				Blutzucht allein	Agglutination allein	Stuhluntersuchung allein	Urinuntersuchung allein	Blutzucht und Stuhluntersuchung	Blutzucht und Urinuntersuchung	Agglutination und Stuhluntersuchung	Agglutination und Urinuntersuchung	Stuhl- u. Urinuntersuchung	Blutzucht, Agglutination und Urinuntersuchung	Blutzucht, Stuhl- und Urinuntersuchung	Agglutination, Stuhl- und Urinuntersuchung	Blutzucht, Agglutination, Stuhl- und Urinuntersuchung	Blutzucht u. Agglutination	Blutzucht, Agglutination und Stuhluntersuchung
1. Woche	75	52	69,2 Proz.	21	6	2	.	.	.	.	.	.	1	1	.	.	20	1
2. Woche	96	77	80,2 Proz.	22	11	4	.	2	1	1	.	.	1	2	.	.	32	1
3. Woche	53	44	83,0 Proz.	11	13	.	.	1	.	2	1	.	1	.	1	.	14	.

In Tabelle IX habe ich versucht, dadurch, daß ich die in den einzelnen Wochen zum ersten Male untersuchten Fälle zusammenstellte, herauszufinden, welche Wochen die größten Aussichten einer sicheren bakteriologischen und serologischen Diagnose geben. Ich konnte nur die ersten 3 Wochen berücksichtigen, da in der 4. Woche nur 7 Fälle meines Materials zum 1. Male untersucht wurden, die gegenüber der großen Zahl in den 3 ersten Wochen nur ein nicht verwertbares Material geliefert hätten. Die Anordnung der Tabelle erklärt sich von selbst aus den Notizen der einzelnen Rubriken. Selbstverständlich ergibt diese Tabelle ein anderes, aber auch ein einwandfreieres Bild als die Tabellen II—VII darüber, welche Krankheitswoche am günstigsten für die bakteriologische und serologische Diagnosestellung ist, da nicht nur eine Untersuchungsart allein, sondern alle Arten mit allen nur möglichen Kombinationen in Betracht gezogen wurden. Dadurch und durch die günstigen Resultate der früheren Tabellen komme ich auch hier zu einem wesentlich anderen Befund wie Schmitz. Während Schmitz die 1. Woche als die günstigste ansieht (S. 248), steigt bei mir die Prozentzahl der sichergestellten Diagnosen von 49,2 Proz. in der 1. Woche auf 80,2 Proz. in der 2. und auf 83,0 Proz. in der 3. Woche, so daß ich mich zu dem Schluß berechtigt glaube, daß — wenigstens in den drei in Betracht gezogenen Krankheitswochen — die Sicherheit der bakteriologisch-serologischen Diagnosestellung mit der Entfernung vom Erkrankungstage wächst.

Zusammenfassung.

Bei der Prüfung der Krankengeschichten von den 221 in der Zeit vom 1. Januar 1910 bis Ende November 1916 in der Königl. Medizinischen Klinik in Kiel stationär behandelten sicheren Typhusfällen wurde hinsichtlich der Leistungsfähigkeit der vom Kieler Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten verwendeten bakteriologisch-serologischen Untersuchungsverfahren folgendes festgestellt:

I. Die Züchtung der Typhusbakterien aus Blut gelang, auf die Anzahl der untersuchten Kranken bezogen, in der 1. Woche in 63,0 Proz., in der 2. Woche in 59,0 Proz., in der 3. Woche in 45,3 Proz., in der 4. Woche in 17,2 Proz., in der 5. Woche in 13,9 Proz. Wurde der in steriler Rindergalle zwecks Anreicherung bebrütete Blutkuchen nicht nur nach 24 Stunden, sondern auch nach 48 Stunden ausgesät, wie das während etwa der Hälfte des in Betracht kommenden Zeitraumes bei 67 Patienten geschah, so betrugen die positiven Blutbefunde in der 1. Woche 85,7 Proz., in der 2. 65,3 Proz., in der 3. 35,7 Proz. und in der 4. Woche 33,3 Proz. Von den insgesamt ausgeführten Blutzüchtungsversuchen waren positiv in der 1. Woche 63,6 Proz., in der 2. Woche 55,4 Proz., in der 3. Woche 44,9 Proz., in der 4. Woche 16,7 Proz., in der 5. Woche 15,5 Proz.

II. Aus den Stühlen der 221 Typhuskranken konnten Typhusbakterien isoliert werden in der 1. Woche in 23,3 Proz., in der 2. in 28,7 Proz., in der 3. in 27,4 Proz., in der 4. in 18,4 Proz., in der 5. Woche in 17,9 Proz. (bezogen auf die Zahl der untersuchten Kranken), bzw. in der 1. Woche in 21,8 Proz., in der 2. in 30,1 Proz., in der 3. in 25,8 Proz., in der 4. in 17,4 Proz., in der 5. Woche in 16,6 Proz. (bezogen auf die Gesamtzahl der ausgeführten Untersuchungen.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

III. Die Urinzüchtung war positiv in der 1. Woche in 17,6 Proz., in der 2. in 9,8 Proz., in der 3. in 12,4 Proz., in der 4. in 21,1 Proz., in der 5. Woche in 13,4 Proz. (bezogen auf die Anzahl der untersuchten Kranken), bzw. in der 1. Woche in 16,1 Proz., in der 2. in 8,9 Proz., in der 3. in 11,1 Proz., in der 4. in 17,1 Proz., in der 5. Woche in 13,3 Proz. (bezogen auf die Gesamtzahl der Untersuchungen).

IV. Mit Hilfe der Widalschen Reaktion gelang die sichere serologische Diagnose (Agglutination eines oder zweier Typhusbakterienstämme in einer Verdünnung von mindestens 1:100) in der 1. Woche in 41,5 bzw. 40,9 Proz., in der 2. in 51,4 bzw. 50,4 Proz., in der 3. in 59,3 bzw. 59,0 Proz., in der 4. in 57,9 bzw. 57,6 Proz., in der 5. Woche in 73,3 bzw. 71,7 Proz.

V. Bei den 221 in Frage stehenden Typhusfällen gelang nur in 4,5 Proz. die bakteriologische und serologische Diagnosestellung im Verlauf der ganzen Krankheit nicht. 2,7 Proz. konnten erst nach der 5. Krankheitswoche durch Züchtung oder Agglutinationsprüfung festgestellt werden. Die übrigen 92,8 Proz. wurden in den ersten 5 Krankheitswochen bakteriologisch und serologisch sicher diagnostiziert. Bei diesen Ergebnissen ist noch zu bedenken, daß ein großer Teil der Kranken erst in den späteren Krankheitswochen zur Untersuchung kam.

VI. Von den in der 1. Krankheitswoche zur bakteriologischen bzw. serologischen Untersuchung kommenden Kranken konnte die Diagnose in 69,2 Proz. der Fälle gestellt werden; von denen in der 2. Woche in 80,2 Proz., von denen in der 3. Woche in 83,0 Proz.; den Hauptteil an diesen positiven Befunden liefert in allen 3 Wochen Blutzüchtung und Agglutinationsprüfung.

VII. Die Zahlen der positiven Stuhlbefunde bleiben in der 2., 3. und 4. Woche ziemlich weit hinter den von anderen Autoren für diese Zeiträume früher ermittelten Zahlen zurück, sind aber immerhin nicht unwesentlich höher, als die von Schmitz in der Jenaer Epidemie gefundenen. Die positiven Stuhlbefunde der 1. Krankheitswoche sind etwas niedriger wie die von Schmitz ermittelten, und decken sich im allgemeinen mit den auf diese Zeit bezüglichen Angaben früherer Autoren. Die Ausbeute an positiven Stuhlbefunden ist, entgegen Schmitz' Feststellungen, aber in Uebereinstimmung mit dem bisher darüber Bekannten, in der 2. und 3. Woche größer als in der 1. Woche.

VIII. Die Urinuntersuchung lieferte in der 1. und 4. Woche die besten Resultate.

IX. Die Feststellungen Schmitz' haben nach dem Mitgeteilten keine Allgemeingültigkeit für die Beurteilung der Leistungsfähigkeit der bekannten und gebräuchlichen bakteriologischen und serologischen Untersuchungsverfahren. Sie sind nicht imstande, die bisherigen Ansichten über die gute Brauchbarkeit und den großen Nutzen dieser Verfahren für die Erkennung von Typhuserkrankungen zu erschüttern. Das von Schmitz bearbeitete Material verhält sich der bakteriologischen und serologischen Diagnosestellung gegenüber vielleicht deshalb so ungünstig, weil es aus einer Epidemie stammt, die durch einen vielleicht schwerer züchtbaren Typhusbakterienstamm hervorgerufen wurde; stellt also in dieser Hinsicht eine von Schmitz für alle übrigen bislang mitgeteilten bakteriologischen und serologischen Feststellungen gerügte Besonderheit dar. Trifft diese Annahme nicht zu, so muß man daran denken, daß die Leistungsfähigkeit der von Schmitz verwandten Züchtungsverfahren nicht so hoch ist, wie die der im Kieler Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten gebräuchlichen.

X. Die Zahl der positiv ausgefallenen Blutzüchtungsversuche war bei einer Temperatur von 39—40° am größten, während sie bei niedrigeren Temperaturen (bei 37—38° besonders, aber auch bei 38—39°) bedeutend kleiner war. Die negativ ausgefallenen Blutzüchtungsversuche waren bei niedrigeren Temperaturen (37—38°) sehr zahlreich, am zahlreichsten jedoch bei einer Temperatur von 39—40°.

XI. In Uebereinstimmung mit Schmitz ist seitens der bakteriologischen Untersuchungsstellen die möglichst frühzeitige Einsendung von Blut-, Stuhl- und Urinproben von Typhusverdächtigen in jedem Krankheitsstadium von den behandelnden Aerzten dringend zu fordern. Die Blutproben sollen nicht zu klein, und die Stuhl- und Urinproben möglichst frisch sein.

XII. Eine sichere Entscheidung über die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen und serologischen Diagnosestellung wird erst zu fällen sein, wenn von einer großen, in klinischer Beobachtung stehenden Anzahl Typhuskranker mindestens alle Woche 2mal sämtliche in Betracht kommenden Proben an einer Stelle und unter den gleichen Bedingungen mit bewährten Verfahren bakteriologisch und serologisch geprüft und die Ergebnisse dieser Untersuchungen statistisch bearbeitet werden.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, dem stellvertretenden Direktor des Hygienischen Instituts der Universität Kiel, Herrn Professor Dr. Ludwig Bitter, für die Ueberlassung der Arbeit und die freundliche Unterstützung und Anregungen bei Abfassung derselben zu danken. Gleichfalls spreche ich meinen Dank Herrn Professor Dr. Walther Frey, dem stellvertretenden Direktor der Königl. Medizinischen Klinik, aus für Ueberlassung der zur Abfassung meiner Arbeit notwendigen Krankengeschichten.

Literaturverzeichnis.

1) Med. Klin. 1915. No. 49.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. S. 312.
3) München. med. Wochenschr. 1906. No. 2.
3a) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. S. 869.
4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71.
5) München. med. Wochenschr. 1902. S. 1561.

Nachdruck verboten.

Ueber den Nachweis von Typhusbazillen in Wasser und Milch mittels Petroläthers.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich (Direktor: Prof. Dr. W. Silberschmidt).]

Von Dr. **A. T. Schuscha.**

Der Nachweis von Typhusbazillen im Wasser ist, trotz der zahlreichen dafür angegebenen Verfahren, immer noch unbefriedigend. Das Prinzip dieser Methoden beruhte einerseits darauf, Nährböden mit Zusatz von gewissen chemisch wirkenden Substanzen (Malachitgrün, Kristallviolett, usw.) zu konstruieren, die den Typhusbazillen nicht schaden, wogegen die anderen saprophytischen Wasserkeime in ihrer Entwicklung gehemmt werden; anderseits für die Bebrütung der infizierten Nährböden (Bouillonkölbchen) solche Temperaturen zu wählen, welche für die nichtpathogenen Keime zu hoch sind, und dadurch eine gewisse Anreicherung der gesuchten Keime herbeizuführen. Es haftete aber an diesen Methoden der Nachteil, daß nur kleine Wassermengen zur Verarbeitung gelangen können, und daß dadurch die Chancen für die Auffindung der pathogenen Keime sich nicht unerheblich verminderten. Etwas bessere Aussichten hatten die Methoden, die sich der chemischen Fällung bedienten, um große Mengen Wasser zu bearbeiten und so die in ihnen enthaltenen Keime auf ein kleines Volumen einzuengen gestatteten.

Vallet (1) beschrieb zuerst ein solches Verfahren; er setzte dem zu untersuchenden Wasser (20 ccm) gesättigte Natriumhyposulfit- und Bleinitratlösungen zu; der sich bildende Niederschlag wurde mit Natriumhyposulfitlösung wieder gelöst und die Lösung auf Nährböden verarbeitet.

Schüder (2) verbesserte die Valletsche Methode noch weiter dadurch, daß er größere Mengen Wassers (2 l) verarbeiten konnte.

Ficker (3) gab, nachdem er mit der Schüderschen Modifikation nicht so gute Resultate erhalten konnte, ein anderes Verfahren an: Das zu untersuchende Wasser (2 l), in hohe Zylinder gefüllt, wird nach Alkalisierung mit 8 ccm 10-proz. Sodalösung mit 7 ccm einer 10-proz. Eisensulfatlösung gefällt; nach dem Absetzen — 2—3 Stunden im Eisschrank — wird der Bodensatz mit zirka dem halben Volumen einer 25-proz. Lösung von weinsaurem Kali versetzt und tüchtig geschüttelt. Nun wird ein Teil des gelösten Niederschlages mit 2 Teilen Bouillon verdünnt und von der Mischung auf Drigalski-Nährboden geimpft. Es gelang ihm mittels dieses Verfahrens, 97—98 Proz. der Einsaatmenge an Typhusbazillen im gelösten Sediment wiederzufinden.

Müller (4) konnte die günstigen Resultate von Ficker durch die Eisensulfatfällung nicht erreichen und fand im Liquor ferri oxychlorati ein besseres Fällungsmittel. Er setzte zu 3 l Wasser 5 ccm dieser Flüssigkeit zu; nach $^1/_2$ Stunde wurde durch ein steriles Filter filtriert, mit einem sterilen Platinspatel der Niederschlag abgeschabt und ein Teil davon auf Drigalski-Nährboden geimpft. Es gelang ihm, speziell bei Benutzung der Zentrifuge zur Abscheidung des Niederschlages, im Mittel 97—98 Proz. der Einsaatmenge wiederzufinden.

Nieter (5) verglich beide Methoden von Ficker und Müller und gab der letzteren den Vorzug. Diesen Fällungsmethoden haftet natürlich der Nachteil an, daß außer den Typhusbazillen auch alle saprophytischen Wasserkeime mitgerissen werden, ein Umstand, der bei stark infiziertem Wasser das Auffinden der gesuchten Keime, die sonst in der Minderzahl vorhanden sind, außerordentlich erschwert.

Hilgermann (6), der die Fällungsmethoden von Ficker und Müller untersuchte, fand bei der ersteren mit keimarmem Wasser 53,5 Proz., mit keimreichem Flußwasser 31 Proz., nach der 2. Methode entsprechend 33 Proz. und 0 Proz. der eingesäten Typhusbazillen wieder. Es würde also einen großen Vorteil bedeuten, durch irgendein Verfahren die nichtpathogenen Wasserkeime aus dem Niederschlag zu eliminieren, ohne dabei die Typhusbazillen zu schädigen.

Bierast (7) hat für den Nachweis von Typhusbazillen im Stuhl eine Methode, die die Bearbeitung von großen Mengen Material ermöglicht, angegeben. Die Methode besteht darin, daß man Stuhl in Bouillon aufschwemmt, mit Petroläther versetzt, das Gemisch 5 Minuten lang mit der Hand kräftig schüttelt; nach $^1/_4$ Stunde wird das Schütteln nochmals 5 Minuten lang wiederholt. Nach 15-stündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur waren die Coli-Bakterien sozusagen vollständig getötet, Typhusbazillen waren hingegen ungeschädigt nachzuweisen.

Hall (8) verbesserte die Methode, indem er das Material nicht mit der Hand, sondern in einem Schüttelapparat für $^1/_2$ Stunde schüttelte und nur 2 Stunden nach dem Schütteln Kulturen anlegte.

Verf. (9) hat die Hallsche Modifikation untersucht und konnte in Bestätigung von Hall zeigen, daß Petroläther eine deutliche bakterientötende Wirkung gegenüber Coli besitzt, während die Wirkung auf Typhus viel geringer ist. Nach diesen Untersuchungen lag der Gedanke nahe, diese Petroläthermethode für den Nachweis von Typhusbazillen im Wasser, und speziell bei stark infiziertem Wasser anzuwenden. Der Gedanke war um so mehr berechtigt, als das Coli-Bakterium, das ein Hauptsaprophyt des infizierten Wassers ist, durch diese Methode in den meisten Fällen eliminiert werden kann.

Wir gingen bei den Versuchen, deren Resultate unten kurz geschildert werden, folgendermaßen vor:

3 l Leitungswasser wurden in einen großen Glaszylinder gefüllt. Das Wasser wurde mit einer entsprechenden Menge Coli- und Typhusbazillenaufschwemmung infiziert. Für die Fällung der Keime wurde die Müllersche Methode benutzt. Es wurde das Wasser mit 5 ccm Liquor ferri oxychlorati versetzt. Nach $^1/_2$-stündigem Absetzen des Niederschlages wurde die obenstehende Flüssigkeit abgegossen und die letzte Quantität Wasser (300—500 ccm), die den Niederschlag enthält, zentrifugiert. [Es stand uns zur Verfügung eine Zentrifuge (3800 Touren in der Minute bei Belastung von 2 l).] Die Hälfte des Niederschlages wurde dann mit 15—20 ccm Bouillon aufgeschwemmt, in ein steriles, dickwandiges Zentrifugierglas gebracht, und mit 4—5 ccm Petroläther versetzt. Das Glas wurde dann mit einem Gummipfropf fest verschlossen und in einem elektrisch betriebenen Schüttelapparat $^1/_2$ Stunde lang geschüttelt. Nach dem Schütteln wurde das Glas im Dunkeln 3 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Es schieden sich 3 Schichten ab: eine obere aus Petroläther und Eisenniederschlag, eine mittlere aus Bouillon und eine untere aus Eisenniederschlag. Durch ausgezogene

Kapillaren wurde aus der oberen und aus der unteren Schicht Material entnommen und auf Endo-Agarplatten geimpft.

Versuch I.

3 l Wasser wurden mit $^1/_{100}$ Oese Typhus und 5 Oesen Coli infiziert. Ergebnis nach der Fällung und Petrolätherbehandlung bei Impfung auf Endo-Agarplatten:

	Coli	Typhus
Obere Schicht	10	380
Untere Schicht einmal	31	740
einmal	135	3630

Die Kontrolle vor der Petrolätherbehandlung zeigte ein massenhaftes Coli-Wachstum, während Typhuskolonien nicht nachzuweisen waren.

Versuch II.

3 l Wasser wurden mit $^1/_{1000}$ Oese Typhus und 5 Oesen Coli (einer 24-stünd. Schrägagarkultur) infiziert. Nach der Fällung und Petrolätherbehandlung wuchsen bei Impfung auf Endo-Nährboden:

	Coli	Typhus
Obere Schicht	180	900
Untere Schicht einmal	45	540
einmal	32	485

Versuch III.

3 l Wasser, ebenso wie bei Versuch II, mit $^1/_{1000}$ Oese Typhus und 5 Oesen Coli infiziert und weiter bearbeitet:

			Coli	Typhus
Obere Schicht	10	Tropfen	330	450
„ „	5	„	178	396
Untere Schicht	5	„	234	660
„ „	3	„	42	122

Kontrolle: Coli: massenhaftes Wachstum, Typhus: nicht nachweisbar.

Diese Versuche zeigen mit aller Deutlichkeit, wie der Nachweis von spärlichen Typhusbazillen in stark infiziertem Wasser mittels dieses Verfahrens sehr leicht gelingt. In künstlich infizierten Wasserproben ließ sich Typhus noch nachweisen bei einem Verhältnis zum Bacterium coli von 1:5000.

Zuletzt wurden Versuche, die die natürlichen Verhältnisse nachahmen sollen, angestelllt:

Versuch IV.

Ein Stück Stuhl eines Bazillenträgers von der Größe einer Mandel wurde mit Bouillon fein zerrieben und zu 3 l Wasser zugesetzt. Das Wasser wurde dann in der üblichen Weise mit Liquor ferri oxychlorati ausgefällt und der Niederschlag mit Bouillon und Petroläther geschüttelt. Das Resultat war folgendes:

		Coli	Typhus
Geschüttelt	obere Schicht	27	432
	untere „	43	930

Kontrolle ohne Schütteln mit Petroläther: Coli: massenhaftes Wachstum
Typhyus: 46 Kolonien.

Ein ebensolcher Versuch wurde in der Weise angestellt, daß das mit dem Stuhl infizierte Wasser behufs Vermehrung der Coli-Keime im Brutschrank für 15 Stunden gelassen und erst dann weiter verarbeitet wurde. Es ergab bei der Probe ohne Schütteln mit Petroläther nur 2 Typhuskolonien neben massenhaftem Coli, dagegen konnten bei der

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

mit Petroläther geschüttelten Probe neben 1100 Coli-Kolonien 57 Typhuskolonien nachgewiesen werden.

Nachweis von Typhusbazillen in der Milch.

Von allen Nahrungsmitteln, die für die Epidemiologie des Typhus in Frage kommen, nimmt die Milch den ersten Platz ein. In einer zusammenfassenden Statistik von Schüder (10) finden wir gegenüber 462 durch das Wasser bedingten 110 auf die Milch zurückzuführende Typhusepidemien; allein die Zahl der Fälle, wo Typhusbazillen in der Milch nachgewiesen werden konnten, ist äußerst minimal. Die Schwierigkeiten liegen an erster Stelle in dem großen Reichtum der Milch an saprophytischen Keimen, die das Auffinden der pathogenen bedeutend erschweren. Wir versuchten daher, nach den befriedigenden Resultaten, die es uns bei der Wasseruntersuchung ergeben hatte, das beschriebene Anreicherungsverfahren auch für die Milchuntersuchung auf Typhusbazillen anzuwenden.

Da eine Einengung des Untersuchungsmaterials auf ein kleines Volumen durch Fällung mit Salzen, wie beim Wasser, wegen der Beschaffenheit der Milch, kaum möglich ist, versuchten wir, die Keime der Milch durch Zentrifugieren zu gewinnen. Scheurlen (11), Bassenge (12) und Bruck (13) haben gefunden, daß beim Zentrifugieren der Milch nicht alle Keime in den Bodensatz übergehen, sondern daß ein großer Teil von ihnen mit den aufsteigenden Fettkügelchen nach oben gerissen wird und in der Rahmschicht sich findet. Wir benutzten daher für die Bearbeitung des Materials, neben dem Bodensatz, auch einen Teil des Rahmes. Der Gang der Untersuchungen war folgender: 250 ccm Milch, mit einer bestimmten Menge einer 24-stünd. Typhusschrägagarkultur infiziert, werden mittels der vorher beschriebenen Zentrifuge $^1/_2$ Stunde lang zentrifugiert. Der Bodensatz sowie $^1/_4$ des Rahmes wird, jeder für sich, mit 10—15 ccm Bouillon aufgeschwemmt und mit 4—5 ccm Petroläther $^1/_2$ Stunde in der Schüttelmaschine geschüttelt. Nach 3-stünd. Stehenlassen wurden Proben auf Endo-Agarplatten geimpft.

Versuch I.

250 ccm Milch $^1/_2$ Stunde zentrifugiert. Bodensatz, sowie 1 Teil des Rahmes mit Bouillon aufgeschwemmt und mit Petroläther geschüttelt. Nach dem Schütteln und Stehenlassen Impfung von 5 Tropfen auf Endo-Platten:

Rahm geschüttelt, obere Schicht	227 Kolonien
„ „ untere „	125 „
„ Kontrolle ohne Schütteln	unzählbare Kolonien
Bodensatz geschüttelt, obere Schicht	390 Kolonien
„ „ untere „	420 „
„ Kontrolle ohne Schütteln	unzählbare Kolonien

Man sieht daraus, daß durch das Schütteln mit Petroläther eine sehr starke Reinigung der Milch von den darin enthaltenen, auf Endo wachsenden Keimen stattgefunden hat.

Versuch II.

1 l Marktmilch mit $^1/_{100}$ Oese Typhus infiziert; 230 ccm davon werden $^1/_2$ Stunde lang zentrifugiert. Bodensatz und $^1/_4$ des Rahmes werden je in Bouillon aufgeschwemmt und mit Petroläther behandelt. Es ergab sich beim Impfen von 5 Tropfen auf Endo-Agarplatten:

		Typhus	Andere Bakterien
Rahm geschüttelt, obere Schicht		0	17
„ „ untere „		0	1
„ Kontrolle ohne Schütteln	I. Platte	0	++++
	II. „	18	4500
Bodensatz geschüttelt, obere Schicht		0	390
„ „ untere „		0	260
Bodensatzkontrolle ohne Schütteln	I. Platte	0	+++++
	II. „	0	6800

Dieser Versuch zeigt, daß bei den mit Petroläther geschüttelten Proben weder im Rahm, noch im Bodensatz Typusbazillen nachgewiesen werden konnten. Bei den Kontrollen kamen in der Rahmprobe 18 Typhuskolonien zum Wachstum. Die Typhusbazillen waren also durch das Schütteln, ebenso wie die meisten Milchkeime, abgetötet, ein Ergebnis, welches im Widerspruch steht mit anderen Versuchen mit Stuhl und Wasser.

Dieser Versuch wurde nochmals, statt mit Marktmilch, mit pasteurisierter Milch ausgeführt, um das Auffinden der Typhuskeime zu erleichtern.

Versuch III.

1 l Milch wurde an 2 aufeinanderfolgenden Tagen 10 Minuten lang auf 70° erwärmt, wonach die Milch möglichst schnell im Eisraum abgekühlt wurde. Am 3. Tage wurde die Milch mit $^1/_{100}$ Oese Typhus infiziert. 250 ccm wurden dann zentrifugiert und Bodensatz und Rahm, wie üblich, behandelt. Es ergab sich beim Impfen von 3 Tropfen auf Endo-Platten:

		Typhus-Kolonien
Rahm geschüttelt	obere Schicht	0
	untere „	4
Bodensatz geschüttelt	obere Schicht	0
	untere „	0
Rahmkontrolle ohne Schütteln		1800
Bodensatzkontrolle ohne Schütteln		2580

In Bestätigung des Resultats des vorhergehenden Versuches waren die Typhusbazillen im Rahm und im Bodensatz durch das Schütteln nicht nachweisbar. Nur auf 1 Platte waren 4 Kolonien in der unteren Rahmschicht nachzuweisen. Auf den Kontrollen waren die Typhusbazillen hingegen zu Tausenden gewachsen. Die Petroläthermethode ist für den Nachweis von Typhusbazillen in der Milch bei Einhaltung der beschriebenen Technik nicht anwendbar. Eine Erklärung für dieses eigenartige, wiederholt beobachtete Verhalten kann ich nicht geben; es erscheint nicht ausgeschlossen, daß die bakterizide Wirkung des Petroläthers in Gegenwart von Fett gegenüber Typhusbazillen und gegenüber anderen Mikroorganismen erhöht wird; das Fett scheint ganz andere Bedingungen zu schaffen als das Wasser.

Zusammenfassung.

Durch Fällung mit Liquor ferri oxychlorati und durch nachträgliche Behandlung des Niederschlags mit Petroläther gelingt es, in einem stark infizierten Wasser Typhusbazillen nachzuweisen. Der Nachweis gelingt noch, wenn Typhus in einem Verhältnis 1:5000 Coli dem Wasser beigemengt ist. Auch in mit Stuhl infiziertem Wasser gelang es mit dieser Methode, Typhusbazillen nachzuweisen.

Für die Milchuntersuchung auf Typhusbazillen kann diese Methode nicht angewandt werden.

Literatur.

1) **Vallet**, Arch. de méd. expér. et d'anat. pathol. 1901.
2) **Schüder**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 42. S. 317.
3) **Ficker**, Hyg. Rundsch. Bd. 14. S. 7.
4) **Müller**, O., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 51. S. 1.
5) **Nieter**, Hyg. Rundsch. Bd. 16. S. 57.
6) **Hilgermann**, Arch. f. Hyg. Bd. 59. S. 355.
7) **Bierast**, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. S. 348.
8) **Hall**, H. C., Berlin. klin. Wochenschr. 1915. S. 1326.
9) **Schuscha**, A. T., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. S. 226.
10) **Schüder**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 38. S. 343.
11) **Scheuylen**, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 7. S. 269.
12) **Bassenge**, Deutsch. med. Wochenschr. 1903. S. 133.
13) **Bruck**, Deutsch. med. Wochenschr. 1903. S. 261.

Nachdruck verboten.

Ein Anreicherungsverfahren für den Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum.

[Aus der bakteriologischen Abteilung (Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Sobernheim) des Medizinalamtes der Stadt Berlin (Stadtmedizinalrat Geheimrat Dr. Weber) und der II. inneren Abteilung des Krankenhauses Charlottenburg-Westend (Oberarzt Dr. Werner Schultz).]

Von

Dr. **Fritz Ditthorn** und Dr. **Werner Schultz.**

Der Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum wird seit Einführung der verschiedenen Anreicherungsmethoden wohl nirgends mehr durch das Originalpräparat allein geführt. Durch die Anwendung der Anreicherung wird eine bedeutend größere Anzahl von Tuberkelbazillen zur Darstellung gebracht und hierdurch die Diagnose nicht unerheblich gesichert; ferner gelingt dadurch oft auch noch der Nachweis von Tuberkelbazillen in denjenigen Sputis, in denen dieselben nur sehr spärlich vorhanden sind und durch das Originalpräparat nicht mehr nachgewiesen werden können.

Die einfache Ligroinmethode von Lange und Nietsche[1]) zeigte sich der wohl später allgemein eingeführten Antiforminmethode von Uhlenhuth[2]) unterlegen, auch die kombinierte Antiforminmethode [Hasserodt[3]), Bernhardt[4])] kam nach den Untersuchungsbefunden von Srinivasa Rau[5]) der einfachen Antiforminmethode nicht gleich.

Bei voller Anerkennung des großen Fortschrittes der Uhlenhuthschen Antiforminanreicherung gegenüber dem einfachen Nachweis durch das Originalpräparat haften dem Verfahren, abgesehen von der Verwendung eines unter Patentschutz stehenden Präparates, doch noch einige Nachteile an. Hierzu zählen wir das mehrmals nötige Waschen und Zentrifugieren des infektiösen Materials, besonders ins Gewicht

---

1) Deutsch. med. Wochenschr. 1909. No. 10.
2) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 32. 1909.
3) Hyg. Rundsch. 1909. No. 12.
4) Deutsch. med. Wochenschr. 1909. No. 33.
5) Hyg. Rundsch. 1909. No. 23.

fallend für Institute mit einem großen Tageseingang von Auswurfproben, das schlechte Anhaften des oft wenig sichtbaren Zentrifugates auf dem Objektträger und zuletzt die nicht unbeträchtliche Dauer des Verfahrens vom Ansetzen der Lösung des Sputums in Antiformin bis zum fertig gewaschenen Zentrifugat.

Wir haben daher die einfache Fällung der aufgelösten Sputumflüssigkeit mit Eisenoxychloridlösung, wie sie bereits von O. Müller[1]) und Ditthorn und Gildemeister[2]) zum Nachweis von Typhusbazillen in Wasser sowie später dann von P. Th. Müller[3]) zur Feststellung der Keimzahl von Wässern angewendet wurde, versucht. Durch die Versuche Müllers wurde bereits gezeigt, daß mittels der Eisenfällung bestenfalls 97—98 Proz. der eingesäten Bazillenmenge, bei anderen Versuchen (ohne Zentrifuge) 73,3—97,3 Proz. der Einsaat wiedergewonnen werden konnten. Auch P. Th. Müller konnte bei 9 Einzelversuchen in Wässern mit einem Gehalt von 740000 und 9500 Keimen im Kubikzentimeter durchschnittlich 99,2 Proz. der Keime mit der Eisenoxychloridfällung nachweisen. Nachdem auf diese Weise festgestellt war, daß die Eisenfällung zur Konzentrierung von in flüssigen Medien verteilten Bakterien hervorragend geeignet ist, ergaben auch unsere Fällungsversuche mit Sputis, wie wohl zu erwarten war, Resultate, die den Vergleich mit der Antiforminmethode bei bedeutend schnellerem Arbeitsgange in jeder Hinsicht auszuhalten vermögen.

Das Waschen und Zentrifugieren fällt bei dieser Methode völlig weg. Durch den Eisenniederschlag, der in feinster Verteilung die ganze, völlig homogenisierte Sputumflüssigkeit erfüllen soll, werden die Tuberkelbazillen zu Boden gerissen. Die mit Tuberkelbazillen beladenen Eisenschollen lassen sich nach erfolgtem Abfiltrieren von der Sputumflüssigkeit leicht mit der schmalen Seite des Objektträgers von dem Filter abkratzen und auf einem neuen durch mehrmaliges Abziehen fein verteilen, während dies bei den, beim Antiforminverfahren abzentrifugierten, freibefindlichen Bazillen anscheinend nicht so leicht der Fall ist. Nachdem unsere Versuche, wie aus den verschiedenen Tabellen hervorgeht, sowohl beim Abzentrifugieren wie beim einfachen Abfiltrieren des Bakterien-Eisenniederschlages stets höhere Zahlen an Tuberkelbazillen im Vergleich zum Antiforminverfahren ergeben haben, haben wir später auf das Zentrifugieren zur erheblichen Vereinfachung der Methode verzichtet. Ein Waschen des Niederschlages erübrigt sich, da die Eisenschollen sehr gut auf dem Objektträger haften.

Unsere Methode gestaltet sich also, wie folgt.

Das Sputum wird, seiner Menge und Konsistenz entsprechend, in einem 50—100 ccm fassenden Zylinder mit annähernd gleichen Mengen sterilen Wassers verdünnt und zur Homogenisierung mit 10 Proz. der im Laboratorium gebräuchlichen Kalilauge (15-proz.) versetzt. Durch starkes Umschütteln, das in manchen Fällen schon genügt, wird eine gleichmäßige Aufschließung der Sputumflüssigkeit erzielt; bei stark mucinhaltigen Sputis kommt der Zylinder auf 10—20 Minuten in einen Thermostaten von 47—50° C oder in ein auf diese Temperatur angewärmtes Wasserbad. Ist nach dieser Zeit eine Homogenisierung vor sich gegangen, so kann die Fällung des Sputums mit 20-proz. Eisenoxydchloridlösung sofort erfolgen. Besonders dickflüssige Sputa können

---

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 51. 1905.
2) Hyg. Rundsch. Bd. 16. 1906.
3) Arch. f. Hyg. Bd. 75. 1912.

nochmals mit sterilem Wasser verdünnt werden. Um einen dichten, die ganze Flüssigkeitssäule erfüllenden, feinen Eisenniederschlag zu erzeugen, genügen gewöhnlich 1,5—2,0 ccm der 20-proz. Eisenlösung (Liquor ferri oxychlorati) (D. A. B. IV) auf ungefähr 30 ccm mit destilliertem Wasser verdünnter Sputumflüssigkeit, bei mehr bis zu 100 ccm wurden 5,0—6,0 ccm verwendet. Ein feiner Niederschlag wird in geeigneter Weise dadurch erzeugt, daß man die die Eisenlösung enthaltende, lange Pipette mit dem Finger oben verschlossen in die Sputumflüssigkeit einführt und während des allmählichen Einfließenlassens der Eisenlösung mit der Pipette andauernd stark, ungefähr $^1/_2$ Minute, umrührt. Der sich gewöhnlich rasch absetzende Niederschlag wird durch Abfiltrieren durch ein glattes Doppelfilter oder besser mittels der Wasserstrahlpumpe auf einer in den Trichter eingepaßten Metallsiebplatte mit angenietetem Griff (wie sie F. und M. Lautenschläger, Berlin, liefern) mit aufgelegtem Doppelfilter noch etwas feucht gesammelt. Es hat sich nämlich gezeigt, daß auf diese Weise ebenso zahlreich Tuberkelbazillen nachgewiesen werden können, wie durch das umständliche, Zeit und Strom kostende Zentrifugieren. Als Trichter benutzt man zweckmäßig einen solchen aus Quarz. Derselbe kann nach Entfernen des Filterniederschlages durch kräftiges Abbrennen mit dem Bunsen-Brenner ebenso von anhaftenden Tuberkelbazillen befreit werden, wie die Metallsiebplatte. Dieses Verfahren hat den Vorteil, daß der Trichter mit der Metallplatte sofort wieder verwendet werden kann, da durch das Ausglühen die Tuberkelbazillen so weit zerstört werden, daß sie durch Färbung nicht mehr nachgewiesen werden können. Die Filterflüssigkeit gelangt in die Saugflasche, die zweckmäßig so viel Sublimat enthält, daß eine 5-prom. Sublimatlösung entsteht. Die gesamten Vorbereitungen zur Untersuchung des Niederschlages nehmen nach unseren Erfahrungen nicht mehr als 30 Minuten in Anspruch. Zur Herstellung des mikroskopischen Präparates empfiehlt es sich, den Eisenniederschlag mittels einer Oese oder der schmalen Seite eines Objektträgers vom Filter auf einen zweiten Objektträger zu bringen und ihn hierauf mit einem weiteren Objektträger durch starkes Aufeinanderdrücken und Abziehen zu verteilen. Durch mehrmaliges Abziehen des betreffenden Objektträgers von dem zweiten verteilt sich der Niederschlag in genügender Weise, so daß man ein sehr brauchbares Präparat erhält. Man läßt dasselbe am besten lufttrocken werden oder trocknet es bei 37° C im Brutschrank. Das Präparat wird dann in der Flamme fixiert, mit Karbolfuchsin in der üblichen Weise gefärbt und mit Alkohol-Salzsäure entfärbt. Ein Nachfärben erübrigt sich, da durch die Kalilauge alle Bakterien, mit Ausnahme der säurefesten, in Lösung gegangen sind. Die Präparate können eine ziemlich dicke Schicht des Eisenniederschlages erhalten, da sowohl die einzeln liegenden, wie die zu Nestern verklumpten, rot gefärbten Tuberkelbazillen sich von den gelbbraunen Eisenschollen selbst noch in erheblicher Tiefe sehr deutlich abheben. Ueber das mikroskopische Bild läßt sich nach unserem Urteil sagen, daß sich die Tuberkelbazillen, da sie meistens an den Eisenschollen angelagert sind, sehr leicht auffinden und erkennen lassen. Schwierigkeiten in der Beurteilung, ob gewisse Gebilde Tuberkelbazillen sind oder nicht, können nicht entstehen. Beim Zusammenliegen von Eisenschollen zeigen die Grenzteile derselben manchmal dunklere Färbung, die beim ersten Anblick die Stelle als verdächtig erscheinen lassen. Eine kleine Drehung der Mikrometerschraube läßt sofort jeden Zweifel verschwinden. Während derartig dunkel aussehende Grenzteile der Eisenschollen sofort hell und lichtbrechend werden, bleiben die Tuberkelbazillen durch die Färbung gleichmäßig im Bilde.

Ueber die verschiedenen Versuche und Resultate der Eisenfällungsmethode, bei denen sowohl das Originalpräparat wie das Antiforminverfahren zum Vergleiche herangezogen wurden, geben folgende Tabellen näheren Aufschluß:

Tabelle I.

Im Originalpräparat positive Sputa, der Eisenniederschlag wird zentrifugiert.

No.	Bezeichnung des Sputums	Befund im Originalpräparat	Befund in der Antiforminanreicherung	Befund bei der Eisenfällung
1	D. 1448	12 Tbz. in 20 G.F.[1])	4 Tbz. in 20 G.F.	12 Tbz. in 20 G.F.
2	D. 1540	10 „ „ 20 „	4 „ „ 20 „	44 „ „ 20 „
3	D. 1462	78 „ „ 20 „	132 „ „ 20 „	200 „ „ 20 „
4	D. 1518	24 „ „ 20 „	135 „ „ 20 „	142 „ „ 20 „
5	D. 1572	10 „ „ 20 „	zahlreiche Nester von Tbz., doch erheblich weniger als bei der Eisenfällung	unzählbare Tbz.
6	D. 1658	3—5 Tbz. in 20 G.F.	124 Tbz. in 20 G.F.	in jedem G.F. 60—80 Tbz.
7	D. 1686	27 Tbz. in 20 G.F.	42 „ „ 20 „	in jedem G.F. zahlreiche bis sehr zahlreiche Tbz.
8	D. 1942	1—2 zweifelhafte Stellen, später wurde eine einwandfreie Stelle gefunden	5 „ „ 20 „	45 Tbz. in 20 G.F.
9	D. 1941	zahlreiche Nesster von Tbz.	unzählbare Tbz.	unzählbare Tbz.
10	D. 2044	10 Tbz. in 20 G.F. und vereinzelte Nester	3 Tbz. in 20 G.F.	24 Tbz. in 20 G.F.
11	D. 2118	21 Tbz. in 20 G.F.	22 „ „ 20 „	25 „ „ 20 „
12	D. 2164	9 Tbz. in 20 G.F.	13 „ „ 20 „	19 „ „ 20 „
13	D. 2246	8—10 Tbz. in jedem G.F. neben vereinzelten Nestern	20 „ „ 20 „	195 „ „ 10 „ neben einem Nest
14	D. 2349	11 Tbz. in 20 G.F.	50 Tbz. in 20 G.F. und Nester	21 Tbz. in 20 G.F.
15	D. 2385	10 Tbz. in jedem G.F.	73 Tbz. in 20 G.F.	305 „ „ 20 „ neben vielen Nestern
16	D. 2431	141 Tbz. in 20 G.F.	unzählbar	unzählbar
17	D. 2433	15 „ „ 20 „	18 Tbz. in 20 G.F.	16 Tbz. in 20 G.F.
18	D. 2453	18 „ „ 20 „	17 „ „ 20 „	272 „ „ 20 „
19	D. 2605	105 „ „ 20 „	213 „ „ 20 „ neben Nestern	394 „ „ 20 „ neben Nestern
20	D. 3044	238 „ „ 10 „	nicht zählbar	nicht zählbar
21	D. 3004	86 „ „ 10 „	206 Tbz. in 10 G.F.	222 Tbz. in 10 G.F.
22	D. 3062	213 „ „ 10 „	nicht zählbar	nicht zählbar
23	D. 3065	20 „ „ 20 „	44 Tbz. in 20 G.F.	37 Tbz. in 20 G.F.
24	D. 3151	14 „ „ 20 „	77 „ „ 20 „	70 „ „ 20 „
25	D. 3589	mindestens 30 Tbz. in jedem G.F. und Nester	in jedem G.F. unzählbare Tbz.	in jedem G.F. unzählbare Tbz.
26	D. 3625	28 Tbz. in 20 G.F.	42 Tbz. in 20 G.F.	232 Tbz. in 20 G.F. neben Nestern
27	D. 3599	8 „ „ 20 „	1 „ „ 20 „	39 Tbz. in 20 G.F.
28	D. 3681	93 „ „ 10 „	15 „ „ 20 „	392 „ „ 10 „ neben vielen, großen Nestern
29	D. 3688	57 „ „ 20 „	59 „ „ 20 „	155 Tbc. in 20 G.F.
30	D. 3757	50 „ „ 20 „	47 „ „ 20 „	105 „ „ 20 „

---

[1]) G.F. = Gesichtsfeld.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß bei den 30 im Originalpräparat positiven Sputis der Bazillenbefund bei der Eisenfällungsmethode niemals geringer war als im Originalpräparat, während bei der Antiforminanreicherung 5mal weniger Tuberkelbazillen festgestellt werden konnten. Ebensoviele Tuberkelbazillen wie im Originalpräparat wurden bei der Eisenfällung nur 3mal, bei der Antiforminmethode 5mal gefunden.

Das Verhältnis der Bazillenbefunde bei den übrigen Sputis im Vergleich zum Originalpräparat war folgendes: bei der Eisenfällung 5mal die doppelte Menge, je 3mal die 3-, 4-, bzw. 5fache Menge, je 1mal das 6-, 8-, 9-, 15-, 20-, 30- und 240fache, 1mal sehr zahlreich und 5mal unzählbar; bei der Antiforminanreicherung 6mal die doppelte Anzahl, 3mal die 5fache, je 1mal die 3-, 7- und 24fache Menge, 2mal zahlreiche und 4mal unzählbare Tuberkelbazillen.

Tabelle II.

Im Originalpräparat positive Sputa, der Eisenniederschlag wird ohne Absaugen abfiltriert und ohne Zentrifugieren auf den Objektträger gebracht.

No.	Bezeichnung des Sputums	Befund im Originalpräparat	Befund in der Antiforminanreicherung	Befund bei der Eisenfällung ohne zentrifugieren des Niederschlages
1	D. 3968	16 Tbz. in 10 G.F.	20 Tbz. in 10 G.F.	57 Tbz. in 10 G.F.
2	D. 3970	54 „ „ 10 „	195 „ „ 10 „	165 „ „ 10 „ und viele Nester
3	D. 4180	94 „ „ 10 „	in jedem G.F. zahlreiche bis unzählbare Tbz.	in jedem G.F. zahlreiche bis unzählbare Tbz.
4	D. 4291	22 „ „ 20 „	22 Tbz. in 20 G.F.	28 Tbz. in 20 G.F.
5	D. 4360	16 „ „ 10 „	15 „ „ 10 „	55 „ „ 10 „
6	D. 4411	10 „ „ 10 „	36 „ „ 10 „	47 „ „ 10 „
7	D. 4414	126 „ „ 10 „	79 „ „ 10 „	135 „ „ 10 „
8	D. 4430	61 „ „ 10 „	105 „ „ 10 „	163 „ „ 10 „
9	D. 4501	136 „ „ 10 „ und 1 Nest	85 „ „ 10 „	190 „ „ 10 „ und 2 Nester
10	D. 4551	in jedem G.F. 10—20 Tbz.	100 „ „ 10 „	unzählbar

Auch bei dieser Methode, des einfachen Abfiltrierens des Niederschlages zeigt sich die Eisenfällungsmethode der Antiforminanreicherung überlegen. Bei ersterer war die im Präparat zur Darstellung gebrachte Bazillenzahl im Vergleich zum Originalausstrich, wie folgt: je 1mal die $1^{1}/_{2}$ bzw. doppelte Menge; je 2mal betrug sie ebensoviel, die 3- bzw. 4fache Menge, 2mal waren die Bazillen unzählbar; bei Behandlung mit Antiformin: je 1mal die $1^{1}/_{2}$-, 3- bzw. 4fache und unzählbare Anzahl, 4mal ebensoviel, und 2mal weniger als im Originalpräparat.

Das Ergebnis dieser Methode, die sich für die Praxis im Laboratorium als sehr geeignet empfehlen dürfte, ist ebenfalls für die Eisenfällung günstiger als für die Antiforminmethode. Bei der Eisenfällung wurde 7mal das gleiche Resultat wie beim Originalausstrich, 2mal die 3fache, 3mal die 4fache und je 1mal die $1^{1}/_{2}$- bzw. 6fache Anzahl erhalten. Bei Antiformin ergab sich je 4mal eine geringere bzw. die

Tabelle III.
Im Originalpräparat positive Sputa, der Eisenniederschlag wird im Quarztrichter mit eingelegter Saugplatte unter Druck abgesaugt.

No.	Bezeichnung des Sputums	Befund im Originalpräparat	Befund in der Antiforminanreicherung	Befund bei der Eisenfällung
1	D. 5674	79 Tbz. in 10 G.F.	16 Tbz. in 10 G.F.	338 Tbz. in 10 G.F.
2	D. 5819	83 „ „ 10 „	214 „ „ 10 „	434 „ „ 10 „ nebst großen Nestern
3	D. 7016	51 „ „ 10 „	142 „ „ 10 „	196 Tbz. in 10 G.F. neben 2 großen Nestern
4	D. 7017	74 „ „ 10 „	12 „ „ 10 „	95 Tbz. in 10 G.F.
5	D. 7192	138 „ „ 10 „	146 „ „ 10 „	140 „ „ 10 „
6	D. 7194	140 „ „ 10 „	20 „ „ jedem G.F.	150 „ „ 10 „ neben Nestern
7	D. 7198	67 „ „ 10 „	48 „ „ 10 G.F.	78 Tbz. in 10 G.F.
8	D. 7259	264 „ „ 10 „	unzählbar	unzählbar, große Nester
9	D. 7278	103 „ „ 10 „	120 Tbz. in 10 G.F.	110 Tbz. in 10 G.F.
10	D. 7297	150 „ „ 10 „	170 „ „ 10 „	144 „ „ 10 „
11	D. 7339	47 „ „ 10 „	57 „ „ 10 „	61 „ „ 10 „
12	D. 7533	11 „ „ 10 „	24 „ „ 10 „	47 „ „ 10 „
13	D. 7567	117 „ „ 10 „	194 „ „ 10 „ neben 1 Nest	235 „ „ 10 „ neben Nestern
14	D. 7678	36 „ „ 10 „	21 Tbz. in 10 G.F.	36 Tbz. in 10 G.F.
15	D. 7356	24 „ „ 10 „	73 „ „ 10 „	77 „ „ 10 „

gleiche Anzahl, 2mal das 1½- bzw. 3fache und je 1mal die doppelte, 2½fache bzw. unzählbare Menge.

Auf dieselbe Methode (Abfiltrieren auf der Metallplatte durch Absaugen mittels der Wasserstrahlpumpe im Quarztrichter) wurden nun 60 im Originalpräparat negative Sputa verarbeitet. Es wurden durch die Eisenfällung dreimal noch positive Befunde erhalten, und zwar mit 5, 2 und 30 Tuberkelbazillen im Präparat, bei allen war die Antiforminmethode, mit Ausnahme des letztangeführten Befundes (das Glas zerbrach beim Zentrifugieren), angestellt, und zwar mit negativem Erfolg. In 4 weiteren Fällen wurden mittels der Eisenfällung einige rot gefärbte Elemente gefunden, die uns aber für eine positive Diagnose nicht typisch genug erschienen.

Weitere Versuche von Dr. Levy im Krankenhaus Charlottenburg-Westend ergaben, daß die Vorbereitung des Sputums mit Antiformin zur Fällung mit Eisenoxydchlorid, infolge der günstigen Homogenisierung, ebenfalls sehr gute Resultate liefert.

Die Eisenfällung zum Nachweis von Tuberkelbazillen läßt sich auch bei Lumbalpunktaten verwenden. Die Punktionsflüssigkeit wird ganz schwach alkalisiert, mit 1—2 Tropfen der Eisenlösung versetzt, zentrifugiert und wie sonst weiter verarbeitet. Wir konnten bereits in 2 Punktaten, in denen der Originalausstrich (Zentrifugat) negativ gewesen war, durch die Eisenfällung noch spärlich Tuberkelbazillen nachweisen. Untersuchungen an einem größeren Material von Punktaten sind im Gange.

Schlußsätze.

1) Bei der Untersuchung von 55 tuberkulösen Sputis hat sich gezeigt, daß die Eisenfällungsmethode als Anreicherungsverfahren äußerst günstige Ergebnisse liefert. Unter 60 tuberkuloseverdächtigen Sputis,

die im Originalpräparat negativ waren, konnten 3 durch diese Methode als positiv erwiesen werden.

2) Sie ist bezüglich der Ausbeute an Tuberkelbazillen dem Uhlenhuthschen Verfahren noch überlegen[1]).

3) Die Eisenfällungsmethode ist einfacher und führt in kürzerer Zeit zum fertigen Präparat, da Waschen und Zentrifugieren nicht nötig ist.

4) Die Methode läßt sich im Notfalle auch ohne Verwendung der Wasserstrahlpumpe durch bloßes Abfiltrieren des Niederschlages, also mit einfachsten Mitteln, anwenden.

5) Zur Homogenisierung kann man außer Kalilauge auch Antiformin mit Vorteil verwenden.

Nachdruck verboten.

Ein Fall von epidemischer Genickstarre bei allgemeiner Miliartuberkulose.

[Aus dem Königl. Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten in Saarbrücken (stellvertretender Direktor: Prof. Dr. E. Gotschlich).]

Von Dr. **P. Börnstein,**

Assistenten am Königl. Institut für Infektionskrankheiten Robert Koch. Zur vorübergehenden Dienstleistung an das Institut nach Saarbrücken entsandt.

Im folgenden soll kurz ein Fall beschrieben werden, der die in der Literatur nicht häufig zu findende Kombination von allgemeiner Miliartuberkulose mit Meningitis epidemica darstellt. Bei Kranken mit schwerer Tuberkulose, insbesondere miliarer Knötchenaussaat in anderen Organen, liegt es nahe, etwa auftretende meningitische Symptome nicht als besondere Krankheit aufzufassen, sondern vielmehr auch die Hirnhautentzündung als tuberkulös anzusehen; kommt eine solche ja oft genug bei Kindern zum Ausbruch.

In der Regel ist die tuberkulöse Meningitis von der epidemischen schon makroskopisch nach dem Aussehen des Lumbalpunktates und der Art der Entzündungslokalisation zu unterscheiden. Man ist gewohnt, das makroskopisch klare Lumbalpunktat als das Anzeichen für eine Meningitis tuberkulösen Ursprungs anzusehen, während eitriges Exsudat für akute (metastatische) oder epidemische Genickstarre als beweisend gilt. Die Entzündungsherde der tuberkulösen Meningitis sollen ferner hauptsächlich in der Gehirnbasis lokalisiert sein, während die durch den Weichselbaumschen Meningococcus hervorgerufene Erkrankung eine eitrige Entzündung an der Gehirnkonvexität, womöglich in der Form der „grünen Haube“, hervorruft. Aber das ist nur die Regel, von der es zahlreiche Ausnahmen gibt; insbesondere ist lange bekannt, daß die foudroyant verlaufenden Fälle von epidemischer Genickstarre makroskopisch oft kaum irgendwelche Veränderungen zeigen; oder es besteht oft nur eine geringfügige Entzündung an der Schädelbasis, speziell am

---

[1] Besonders scheint die Zusammenballung der Tbz. zu Nestern durch Eisenfällung begünstigt zu werden.

Chiasma nervorum opt. und an der Hypophyse, eine Lokalisation, die wahrscheinlich aus der Eintrittspforte der Erreger von dem Nasen-Rachenraum erklärbar ist. So können die sonst zur Differentialdiagnose gut brauchbaren makroskopischen Merkmale der Entzündung verschiedener Aetiologie ineinander übergehen, so daß die Entscheidung nur das Mikroskop erbringen kann.

Der von uns beobachtete Fall bringt zwar nichts wesentlich Neues, dürfte aber doch als interessanter Beitrag zur Untersuchungspraxis erscheinen. Er kam im Bürgerhospital zu Saarbrücken (Direktor: Geh. San.-Rat Dr. Mertz) zur Behandlung und wurde von uns bakteriologisch untersucht und epidemiologisch weiter verfolgt. Die Anamnese ist kurz folgende:

I. M., 11 Jahre alt, ist, nach Angabe seiner Eltern, nie krank gewesen; auch seine 5 Geschwister (3 Brüder und 2 Schwestern) waren stets gesund. Eltern wie Kinder machen auch äußerlich einen gesunden Eindruck, insbesondere liegt scheinbar eine tuberkulöse Belastung nicht vor. Anfang Mai erkrankte der Knabe mit hohem Fieber und heftigen Kopfschmerzen, und bald trat starke Benommenheit auf. Wegen Genickstarreverdacht wurde er am 11. Mai 1916 in das hiesige Krankenhaus überführt. Auch die hier beobachteten klinischen Erscheinungen sprachen für Genickstarre.

Am Sonnabend, den 12. Mai, wurde dem Kinde durch Lumbalpunktion Rückenmarksflüssigkeit entnommen, die makroskopisch klar war, also dem sonst für tuberkulöse Meningitis charakteristischen Aussehen entsprach und bei langem, scharfem Zentrifugieren nur ein sehr spärliches Sediment absetzte. Dieses wurde im direkten Ausstrich untersucht, sowie auf Ascitesagar und Loeffler-Serum verarbeitet. Die mikroskopische Musterung des nach Gram gefärbten direkten Ausstriches zeigte spärliche, zum Teil zertrümmerte Leukocyten und ganz vereinzelte Lymphocyten; zwischen den Zellen lagen ziemlich viel gramnegative, oft in Tetraden angeordnete, semmelförmig gelagerte Kokken verschiedener Größe, ein Bild, das — abgesehen von der hier meist extracellulären Lagerung — dem bei epidemischer Genickstarre üblichen Befunde entsprach. Differentialdiagnostisch kamen der ziemlich selten im Lumbalpunktat beobachtete Micrococcus flavus und catarrhalis in Betracht, die aber zudem nicht in Tetraden liegen; endlich Gonokokken, die aber im Lumbalpunktat noch seltener beobachtet sind. Ganz vereinzelt waren diese Semmelkokken auch von Leukocyten eingeschlossen, bzw. waren sie an einem teilweise zerstörten Leukocyten so angelagert, daß man annehmen mußte, die Kokken hätten sich vor seiner Zerstörung in seinem Innern befunden.

Leider blieben die angelegten Kulturen auf Ascitesagar steril, so daß eine Züchtung und anschließende Agglutination zur Sicherung der Diagnose unterbleiben mußte. Dieser Umstand könnte den Einwand rechtfertigen, daß es sich vielleicht um eine zufällige Verunreinigung eines tuberkulösen Punktates mit meningokokkenähnlichen Keimen gehandelt hat. Die Diagnose gewann jedoch bald dadurch an außerordentlicher Wahrscheinlichkeit, daß die Untersuchung der Verwandten und Hausgenossen des erkrankten Kindes bei dem etwa gleichalterigen Bruder im Rachensekret echte Meningokokken feststellte, die rein gezüchtet wurden und durch Agglutination mit Meningokokkenserum bis zur Titergrenze (1 : 1000) einwandfrei als echte Meningokokken anerkannt wurden. Wenn auch diese Züchtung aus dem Rachenschleim des Bruders natürlich nicht als direkter Beweis für den Meningokokkencharakter der Bakterien des Lumbalpunktates angesehen werden soll, so wäre es doch ein seltsames Zusammentreffen, wenn hier in einer Gegend, wo gegenwärtig der Meningococcus nur ganz sporadisch auftritt, von 2 Geschwistern das eine echte Meningokokken im Rachen, die Schwester aber eine Meningitis tuberculosa mit meningokokkenähnlichen Bakterien in der Schädelhöhle als Nebenbefund haben sollte.

Das erkrankte Kind starb am 13. Mai abends, also 2 Tage nach der Einlieferung ins Krankenhaus. Die Leichenöffnung zeigte eine erhebliche Injektion der Meningealblutgefäße und geringe Entzündungserscheinungen an der Schädelbasis, insbesondere in der Gegend des Chiasma nerv. opt.; Tuberkel waren nicht zu erkennen. Beide Lungen enthielten dagegen eine miliare Aussaat von Tuberkeln. Die Pleuren wiesen zahlreiche Verwachsungen auf, einige Knötchen waren auch in der Leber. Die anderen Organe boten keine Besonderheiten.

Mit Rücksicht auf den allgemeinen Sektionsbefund und ohne die vorangegangene bakteriologische Untersuchung hätte es nahe gelegen, die Meningitis als eine solche tuberkulöser Natur anzusprechen (makroskopisch kein Eiter, sondern klares Punktat, Lokalisation der Entzündung an der Gehirnbasis).

Von der Pia mater wurden Gewebsstücke einer genauen mikroskopischen Untersuchung unterzogen. Die Hirnhautstückchen zeigten die Bilder einer eitrigen Entzündung, wie sie bei den durch den Meningococcus hervorgerufenen gefunden werden. Tuberkel konnten in den Hirnhautschnitten nicht wahrgenommen werden. „Eine Doppelinfektion mit Tuberkelbacillen und Meningokokken ist wohl möglich, doch spricht hier das mikroskopische Bild nicht für die Annahme einer solchen.“ Dieser Befund wurde von dem Pathologisch-anatomischen Institut der Universität Straßburg erhoben, zugleich mit dem Hinweise auf die vereinzelt mitgeteilten Fälle, in denen eine Meningitis tuberculosa mit einer Meningitis epidemica vergesellschaftet war.

So beobachtete Wall 1903 in 38 Fällen von akuter Cerebrospinalmeningitis 22mal den Weichselbaumschen Diplococcus intracellularis in Reinkultur; in 7 dieser Fälle, in denen intra vitam der Weichselbaumsche Coccus in der Lumbalflüssigkeit festgestellt worden war, fand man post mortem eine allgemeine Miliartuberkulose; ob diese Miliartuberkulose sich auch auf den Schädelinhalt erstreckte oder nur andere Organe befallen hatte, ist aus den zur Verfügung stehenden Angaben nicht ersichtlich (zitiert nach Baumgarten). Sodann erwähnt Holdheim — 1896 — in einem Bericht über 4 typische Meningitisfälle einen, bei dem sich Tuberkelbacillen neben Meningokokken vorfanden. Er führt diesen Doppelbefund auf mangelhafte Asepsis zurück, ermöglicht durch die vermeintliche Lebenszähigkeit der Meningokokken (!). 1897 beobachtete Heubner, aufmerksam gemacht durch die Beobachtung Holdheims, im Laufe einiger Monate unter 14 Fällen von tuberkulöser Meningitis bei Kindern 2mal „Kulturen, die in bezug auf Wachstum und die höchst charakteristische Gestalt des einzelnen Individuums durchaus analog dem Meningococcus sich verhielten“; das eine der erkrankten Kinder stammte aus einer Gegend Berlins, in der gleichzeitig echte Meningitis festgestellt worden war.

Bei allen diesen Untersuchungen wird noch nicht streng zwischen dem echten Meningococcus Weichselbaum und dem Jägerschen Diplococcus, die, wie wir heute wissen, keineswegs identisch sind, unterschieden. Diese genaue Unterscheidung fehlt auch bei dem sonst so reichhaltigen Beobachtungsmaterial Pfaundlers, der 200 Lumbalpunktionen bei Genickstarre ausführte und hier bei 7 Fällen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

einer Mischinfektion mit anderen Krankheitserregern begegnete, davon einmal dem Tuberkelbacillus: „Nach Gram findet man die Kokken teils gefärbt, teils entfärbt“. Endlich gelang es Levkowicz, unter 5 Fällen von Genickstarre einmal in dem intra vitam entnommenen Lumbalpunktat kulturell, wie im direkten Ausstrich, echte gramnegative Meningokokken nachzuweisen, während später die Sektion eine ausgedehnte Miliartuberkulose, Lymphdrüsentuberkulose und Meningitis tuberculosa zutage förderte. Mit Rücksicht auf das hier einwandfrei nachgewiesene, gramnegative Verhalten des Erregers, sowie auf die gelungene Identifizierung durch Kultur und Agglutination ist wohl dieser Befund als erste sicher festgestellte Kombination von Meningitis tuberculosa und echter Genickstarre anzusprechen. Weitere Beobachtungen konnten wir in der zur Verfügung stehenden Literatur nicht ermitteln.

In unserem Falle scheint der Befund auf den ersten Blick eine doppelte Deutung zuzulassen. Gehen wir von dem Ergebnis der pathologisch-anatomischen Untersuchung aus, so kann man an eine Mischinfektion der Meningen mit Tuberkulose und Meningokokken denken, auf Grund der bakteriologischen Untersuchung und der Abwesenheit von Tuberkeln aber an eine Meningokokkeninfektion mit atypischem pathologisch-anatomischen Befunde. Die erstere Möglichkeit ist wohl, infolge des Fehlens von Tuberkeln oder Tuberkelbacillen in der Schädelhöhle, auszuschließen; und es dürfte daher wohl die Erkrankung in dem Sinne einer reinen Meningokokkeninfektion bei einem durch Tuberkulose der anderen Organe geschwächten und so leichter für eine interkurrente Infektion disponierten Individuums zu deuten sein. Das entspricht auch der Auffassung Westenhöfers, der bei seinen Forschungen, anläßlich der großen Meningitisepidemie in Schlesien im Jahre 1905, häufig allgemeine Lymphdrüsenschwellungen bei den Sektionen beobachtete und diesen Zustand als ein Zeichen einer prädisponierenden, lymphatischen Konstitution, speziell bei einer Hyperplasie der Rachenmandel, als Eintrittspforte ansah. Solche Personen sind dann viel mehr gefährdet und einer Meningokokkeninfektion leichter zugänglich, als ein Individuum mit normalem Drüsenapparat, und erkranken an Meningitis, während bei letzteren, falls sie die Mikroben in sich aufnehmen, die Infektion nur latent bleiben kann (Kokkenträger).

Die Schwellung der Lymphdrüsen als eine Folge der Allgemeininfektion mit Meningokokken anzusehen, wie Busse es vorschlägt, kommt in unserem Falle bei der danebenbestehenden allgemeinen Tuberkulose wohl nicht in Frage.

Wenn auch unser Fall an sich nur das zufällige Nebeneinander einer Meningitis und einer Allgemeintuberkulose darstellt, so ist doch die Kenntnis gerade solcher Fälle auch vom seuchenpolizeilichen Standpunkte aus von besonderer Wichtigkeit, da eine Meningitis, die durch eine Tuberkulose verschleiert wird, leicht der Ausgangspunkt von Epidemien werden kann. Deshalb ist unbedingt auch in Fällen einer anscheinend durch klinische und makroskopische Befunde völlig erwiesenen tuberkulösen Meningitis stets die bakteriologische Untersuchung des Lumbalpunktates zu fordern, das möglichst noch intra vitam oder doch wenigstens sehr bald post mortem zu entnehmen ist, da aus zahlreichen Beobachtungen hervorgeht, daß die Meningokokken meist schon innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Tode in der Leiche zugrunde gehen.

Bei den bakteriologischen Untersuchungen hat mich cand. med. Vonderweidt in dankenswerter Weise unterstützt.

Literatur.

1) Heubner, Deutsch. med. Wochenschr. 1896. No. 27.
2) — Ebenda. 1896. No. 16.
3) Holdheim, Ebenda. 1896. No. 34.
4) Kutscher, Die Meningokokken. (In Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorganism.)
5) Lewkowicz, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 55. (Zit. n. Baumgartens Jahresber. 1902.)
6) Pfaundler, Ebenda. N. F. Bd. 49.
7) — Verhandl. d. Gesellsch. Deutsch. Naturf. u. Aerzte. 70. Vers.
8) — Beitr. z. klin. Med. u. Chir. 1898.
9) Wall, R. C. B. Acute cerebrospin. Meningit. caus. by the Diplococc. intracell. Weichselbaum. (Zit. n. Baumgartens Jahresber. Bakt.)
10) Weichselbaum, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33.
11) Westenhöfer, Klin. Jahrb. Bd. 15 u. Arb. ü. d. übertragbare Genickstarre in Preußen im Jahre 1905.

(G. C.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Spirochaete forans.

Von Privatdozent Dr. **Hans Reiter,** Oberarzt d. L., komm. zum Königl. Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten in Saarbrücken.

Mit 1 Tafel.

Wie bereits anderen Ortes (Deutsch. med. Wochenschr. 1916. No. 50) mitgeteilt, konnte ich im Oktober 1916 bei einem Krankheitsbilde, das die schwersten Gelenkerscheinungen, Milzschwellung, Entzündungen der Augenbindehaut, Cystitis, Iritis und ein wochenlang täglich zwischen 37 und 39° schwankendes Fieber zeigte, aus dem Armvenenblut mittels Züchtung auf Blutascites-Fleischbrühe eine Spirochaete in Reinkultur nachweisen, für die ich, wegen ihrer bohrenden Bewegung im Dunkelfeld, den Namen Spirochaete forans vorgeschlagen habe.

Ich sprach damals die Ansicht aus, daß es sich bei dieser Krankheit wahrscheinlich um einen morbus sui generis handele, daß wahrscheinlich noch andere Krankheitsfälle gleicher Art vorgekommen sind, und daß möglicherweise weniger schwer verlaufende Fälle unter dem Bilde eines leichteren Gelenkrheumatismus zur Behandlung kommen können. In der Diskussion, die sich an meinen, am 12. Nov. 1916 in der Berliner Med. Gesellschaft gehaltenen Demonstrationsvortrag anschloß, berichtete Fleischmann über einen ganz analog verlaufenden Fall, der sich auf einem anderen Kriegsschauplatze ereignet hatte und dessen Aetiologie dunkel geblieben war. Auch spricht das ganz charakteristische Krankheitsbild, das vielleicht aber in der beschriebenen Form gar nicht die Regel zu sein braucht, gegen diese Möglichkeit. (Immerhin soll man auch daran denken, daß der Blutbefund, trotz positiver Serumreaktion, ein akzidenteller gewesen sein kann, und daß die aus dem Blut isolierten Spirochäten nicht die Ursache der Krankheit darstellten. Allerdings würde dieser Spirochätenblutbefund beim Menschen bisher einzig dastehen!). Weitere experimentelle Untersuchungen sind leider nicht möglich, da, wie ich bereits mitteilte, eine Weiterimpfung der Kulturen nicht gelang.

Im nachfolgenden soll in erster Linie über die morphologischen Verhältnisse der Spirochaete forans berichtet werden:

Die Spirochaete nimmt leicht den Farbstoff an: stark verdünnte wässerig-alkoholische Fuchsinlösung färbt, kalt angewendet, in 15—30 Sekunden, weniger intensiv färbt Loefflers Methylenblau. Bei Verwendung von Giemsa-Lösung erscheinen die Spirochäten in einer blau-rötlichen Farbe. Der Färbeeffekt ist, je nach dem Alter der Kultur, verschieden stark: jüngere Kulturspirochäten fassen den Farbstoff gleichmäßiger und kräftiger als ältere, über 6 Tage alte Spirochäten.

Die Größe der Spirochaete und die Zahl ihrer Windungen ist verschieden. In jungen Kulturen sieht man in der Regel solche von 5—6 Windungen; neben diesen trifft man auch solche mit nur 3—2—1 Windung; die letzteren haben dann fast das Aussehen von Vibrionen. In der ersten Mitteilung war von mir darauf hingewiesen worden, daß, je kleiner die Spirochaete, desto größer ihre eigene Schnelligkeit ist, mit der sie in bohrender Bewegung das Gesichtsfeld durcheilt. — Auf Fig. 1—3 sind Spirochäten einer jüngeren Kultur in verschiedener Größe abgebildet, Fig. 2 zeigt einige Spirochäten mit nur $1^1/_2$—2 Windungen. Die Art der Windungen ist eine mittelsteile zu nennen, in der Regel gleichmäßig hoch; nur gegen das Ende der Spirochaete zu sieht man eine leichte Abflachung, es kommt dies besonders in Fig. 3 zur deutlichen Geltung. Die Spirochätenenden selbst erscheinen leicht zugespitzt, wie das ebenfalls auf Fig. 3 zu erkennen ist. Die Spirochaete forans zeigt morphologisch gewisse Aehnlichkeiten mit der Spirochaete pallida, doch ist ihr Bau im allgemeinen kräftiger und ihr färberisches Verhalten ein ganz anderes.

Auch in relativ jungen Kulturen begegnet man neben den Spirochäten von 5—6 Windungen vereinzelt längeren von 9—10 Windungen, doch sind diese Ausnahmen (Fig. 1 und 2).

Bei der Lagerung der Spirochäten in 4-tägigen Kulturen fällt auf, daß sie sich gern auf kürzere oder längere Strecken aneinander legen, zuweilen — das ist bei Kulturen dieses Alters selten — lagern sich mehr als zwei Spirochäten streckenweise aneinander und erzeugen so das Aussehen kleiner Zöpfe (Fig. 1—3). Durch das teilweise Freibleiben anderer Spirochätenteile, besonders der Spirochätenenden, wird schon in jüngeren Kulturen der Eindruck erweckt, als ob es sich um Längsteilungen oder Verzweigungen der Spirochaete handelt; ob es sich tatsächlich um Längsteilungen handelt, will ich dahingestellt sein lassen, Querteilungen sind wahrscheinlicher, obgleich man allerdings auch solche Bilder bekanntlich als das Endstadium einer Längsteilung erklären kann. Bezüglich der Klassifizierung der Spirochäten kann man der Art ihrer Teilung wohl kaum die Bedeutung zusprechen, wie es eine Zeitlang von einer Anzahl Autoren geschah. Ein exaktes Urteil an der Hand von totem Material über die Art der Teilung abgeben zu wollen, halte ich für fast unmöglich; es werden zu leicht Bilder vorgetäuscht, vor deren Mißdeutung man sich hüten muß. Auch bei der Spirochaete forans trifft man häufig auf Konstellationen, die in einem Falle als Längs-, im anderen Falle als Querteilung angesehen werden können. Ein tatsächliches Vorkommen des einen unter Ausschluß des anderen Vorganges beweisen sie keineswegs.

Aehnlich liegt die Frage der Verzweigungen. Auch diese können gewiß durch ganz zufällige Lagerungen, wie sie hauptsächlich durch die Lebensbedingungen in einem flüssigen Kulturmedium ermöglicht werden, vorgetäuscht sein; gerade durch quere Ueberlagerungen, weniger durch Anlagerungen der leicht biegsamen, feinen Gebilde werden Bilder geschaffen, die die Deutung als Verzweigung fast mit absoluter Sicherheit zuzulassen scheinen.

Besonders bei Spirochäten mit ihrem fein gewundenen Körper schlingen sich leicht die zarten Enden der beweglichen Spirochäten um andere in der Nähe befindliche Körper, also in Reinkulturen um andere Spirochäten. Dabei legt sich das feine Ende fest an die sich ebenfalls in rotierender Bewegung befindliche Nachbarspirochäte, und diese äußere Vereinigung ist dann im mikroskopischen Bilde nicht mehr in Einzelheiten aufzulösen. Ganz bestrickend müssen die Bilder wirken, wenn sich kleinere Spirochäten an größere anlagern und sich an diese gewissermaßen anschrauben. Hierbei müssen die „getreuesten" Bilder von Verzweigungen entstehen! Auch in den Figg. 1—3 ist das wiederholt zu erkennen.

Das Leben der Spirochaete forans in Kulturen ist ein kurzes: schon in 6-Tagekulturen ist ihr Aussehen verändert; durchschnittlich trifft man jetzt Spirochäten von größerer Länge und entsprechenden Mehrwindungen. 15—20 Windungen sind keine Seltenheit. Neben den in jungen Kulturen beobachteten steilen Windungen begegnet man jetzt schon flacheren, die der Spirochaete das Aussehen verleihen, als sei sie in die Länge gedehnt worden; es mag das darauf beruhen, daß die innere Spannkraft der Spirochaete bereits nachzulassen beginnt. Im lebenden Präparat ist zu dieser Zeit die Bewegung schon eine ganz langsame geworden.

Entsprechend der Möglichkeit einer gegenseitigen längeren Fixierung, trifft man die Spirochäten jetzt seltener vereinzelt liegend, viel häufiger dagegen zeigte sich eine Zopf- und Knäuelbildung durcheinander verschlungener Spirochäten (Fig. 4 und 6). Diese für echte Verzweigungen zu halten, liegt aus den obengenannten Gründen kein genügender Beweis vor, womit jedoch nicht gesagt sein soll, daß ich die Möglichkeit echter Verzweigungen bestreite.

Großes Interesse erfordert das in 6-Tagekulturen regelmäßig, in 4-Tagekulturen selten beobachtete Auftreten fast runder Knötchengebilde, die an den Spirochäten ganz vereinzelt beerenartig aufsitzen (Fig. 5—8). Oft sitzen mehrere Knötchen an verschiedenen Windungen einer Spirochaete, zuweilen sitzt ein Knötchen nur an dem Ende einer Spirochaete, ein Bild, wie wir es häufig bei dem Treponema pertenue, bei der Spirochaete der Weilschen Krankheit und anderen finden. Zuweilen trifft man Knötchen, die gewissermaßen das Zentrum eines Spirochätensternes darstellen und von dem mehrere Spirochäten (5—6) nach den verschiedensten Richtungen abstrahlen (Fig. 2 und 5). Auch hierbei muß man mit der Annahme rechnen, daß es sich nur um die Anlagerung mehrerer knötchenfreier Spirochäten an das Knötchen einer knötchentragenden Spirochaete handeln kann.

Daß es sich bei diesen Knötchen nicht um Wachstumszentren handelt, von denen neue Spirochäten absprossen, dafür sprechen die mittels starker Vergrößerung erhaltenen Bilder (Fig. 7—9). Sämtliche lassen sich durch die Annahme einer einfachen Lagerung zwanglos erklären. Wenn besonders gern eine solche gerade an den Knötchen erfolgt, so spielen hierbei vielleicht gewisse mechanische Vorgänge eine Rolle. Die Knötchen selbst zeigen eine verschiedene Größe, ganz kleine, kaum sichtbare am Lauf der Spirochaete, mittelgroße und große von etwa

Staphylokokkengröße. Jüngere Kulturen zeigen nur die kleineren Formen, ältere auch die großen. Färberisch entspricht das Verhalten der Knötchen ihrer Größe: je kleiner sie sind, desto intensiver färben sie sich mit dem Farbstoff, und zwar in gleicher Weise wie die Spirochaete selbst. In nach Giemsa gefärbtem Präparate zeigen sie den gleichen blau-rötlichen Farbenton wie der übrige Spirochätenleib, sie sind also scheinbar keine Ansammlung besonderer Leibessubstanzen; da die Färbung der größeren Knötchen sogar schwächer ausfällt als die der Spirochäten selbst, könnte man mit mehr Berechtigung an eine Art von Degenerationserscheinung denken. Kleine Knötchen erscheinen einheitlich gefärbt; an den größeren Knötchen läßt sich deutlich eine Differenzierung wahrnehmen, und zwar kann man ein kleineres, stets exzentrisch gelegenes, sehr intensiv gefärbtes Körperchen in dem blasser gefärbten übrigen Knötchenteil erkennen (Fig. 7). Dieses Körperchen ist gewöhnlich gleichmäßig kräftig gefärbt; nur an den größten Körperchen glaubt man eine weitere Teilung in 2—3 körnchenartige Gebilde zu erkennen.

Ueber das Wesen dieser Knötchen, deren Bildung man unter bestimmten Bedingungen wohl bei sämtlichen Spirochätenarten beobachten kann, besteht noch keine einheitliche Auffassung. Es stehen im Prinzip sich zwei Meinungen gegenüber: die einen sehen in den Knötchen eine Degenerations-, die anderen eine Proliferationserscheinung, doch ist auch der Beweis für die Richtigkeit des von Meirowsky ausgesprochenen Gedankens, daß wir bei gewissen Spirochäteninfektionen (z. B. Lues und Weilsche Krankheit), ebenso wie bei der Tuberkulose, mit der Existenz einer granulären Form des Virus rechnen müssen, zurzeit als noch nicht erbracht anzusehen. Eins kann man wohl mit Sicherheit aussprechen: es handelt sich bei diesen Knötchengebilden nicht um Entwicklungsformen mit Sporencharakter. Hiermit soll nicht die Möglichkeit bestritten werden, daß diese Knötchen, in günstige Lebensbedingungen gebracht, zu neuen Spirochäten auswachsen können. Als bewiesen kann diese Möglichkeit zurzeit noch nicht gelten.

In der 8-Tagekultur ist das Absterben der Spirochäten fast gänzlich vollendet. Die Spirochätenwindungen sind hier ganz flach, oft lassen sie sich überhaupt nicht mehr wahrnehmen. Die Färbung der Spirochäten gelingt nur noch lückenhaft, sie ähneln feinen Schläuchen mit stückweisen, resp. körnchenartigen Einlagerungen. Im Gegensatz zum eigentlichen Spirochätenleib, nehmen die kleineren Knötchen zunächst noch intensiv den Farbstoff an, die größeren zeigen den gleichen Charakter wie die der 6-Tagekulturen und weisen also in einer blässeren Hülle ein kleines, intensiv gefärbtes, exzentrisch gelegenes Körperchen auf. In noch älteren Kulturen verlieren auch die Knötchen die Fähigkeit, den Farbstoff aufzunehmen.

Die färberische Eigentümlichkeit der Knötchen ist besonders interessant im Hinblick auf die Anschauungen über ihre genetische Bedeutung. Sie würde zweifellos nicht gegen die Annahme von Meirowsky sprechen. Vielleicht beschränkt sich die Eigenschaft der Knötchen darauf, ihre Lebensfähigkeit nur wenig länger als die Spirochaete selbst zu bewahren; hierdurch würden manche verschiedenartige Beobachtungen eine zwanglose Erklärung finden.

Tafelerklärung.

Fig.	1.	Spirochaete	forans.	Reinkultur	4	Tage	alt.	Vergrößerung	ca. 1:520.
„	2.	„	„	„	4	„	„	„	1:520.
„	3.	„	„	„	4	„	„	„	ca. 1020.
„	4.	„	„	„	6	„	„	„	ca. 1:500.
„	5.	„	„	„	6	„	„	„	ca. 1:500.
„	6.	„	„	„	6	„	„	„	ca. 1:550.
„	7.	„	„	„	6	„	„	„	ca. 2500.
„	8.	„	„	„	6	„	„	„	ca. 1:2000.
„	9.	„	„	„	6	„	„	„	ca. 3000.
„	10.	„	„	„	8	„	„	„	ca. 500.

(G. C.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung von Emetinum hydrochloricum auf Trypanosomen.

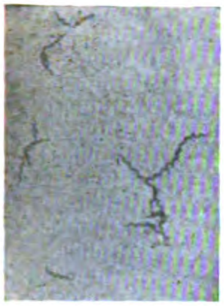
[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Zürich (Direktor Prof. Dr. W. Silberschmidt.)]

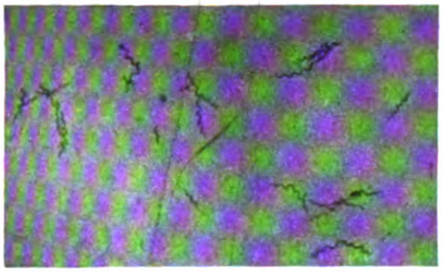
Von Dr. **A. T. Schuscha.**

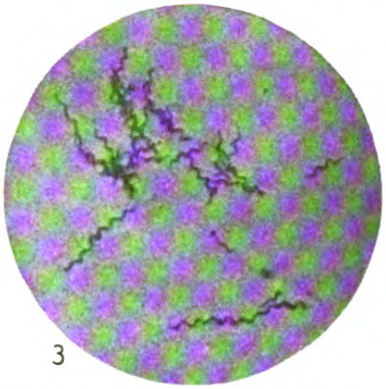
Angesichts der überraschenden, anscheinend spezifischen Wirkungen, welche das Emetin nach den in den letzten Jahren erschienenen Berichten von Wherry (1), Roger (2), Vedder (3), Baermann und Heinemann (4), Dopter und Rouget (5), Wagner (6) und anderen auf Amöben-Dysenterie und von M. Mayer (7) auf Lamblia intestinalis ausübt, erschien es mir nicht ohne Interesse, Versuche darüber anzustellen, ob vielleicht auch Trypanosomen auf Emetin reagieren.

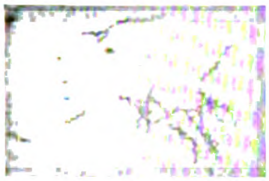
Die Versuche wurden mit einem Stamm des Dourine-Erregers (Trypanosoma equiperdum) angestellt. Für die Infektion wurden weiße Mäuse benutzt. Der Infektionsmodus war folgender: Eine infizierte Maus, mit reichlich Trypanosomen im Blut, wurde entblutet und das Blut in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgefangen. Von dieser Aufschwemmung wurde jeder neu zu infizierenden Maus mittels Pravaz-Spritze eine gewisse Menge subkutan injiziert. Der benutzte Stamm tötete Mäuse innerhalb 7—14 Tagen. Da das Emetinum hydrochloricum, wie es bis jetzt gegen die Dysenterie-Amöbe angewandt wurde, nicht in der Schweiz zu erhalten war, so stellten wir selbst das Salz aus einem Emetinpräparat her, das uns von Herrn Prof. Cloetta (Direktor des hiesigen Pharmokologischen Instituts) in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt wurde, durch Lösung des Alkaloids in verdünnter Salzsäure und nachträgliche Verdampfung der Lösung im Exsikkator unter Vakuum. Es wurde dann $^1/_{1000}$ Lösung in physiologischer Kochsalzlösung hergestellt, mit der die Mäuse subkutan eingespritzt wurden.

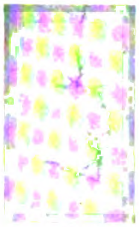
Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 79. ***H. Reiter,*** *Spirochaete forans.*

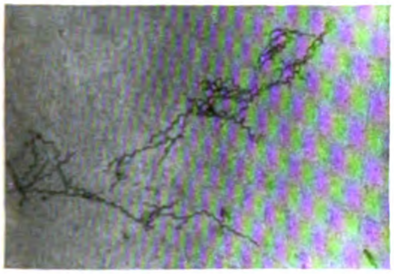

1

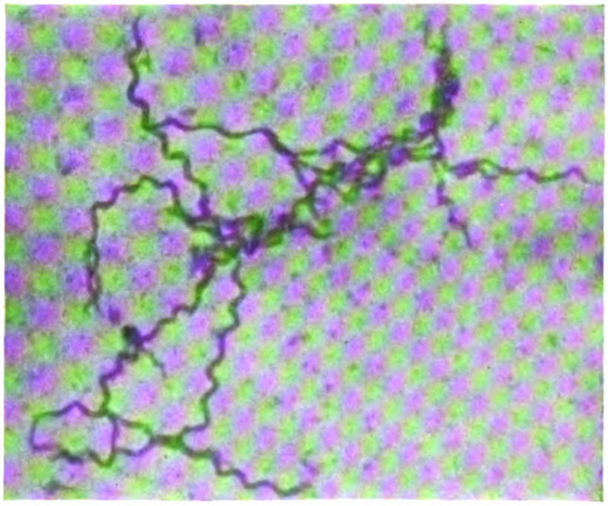

2

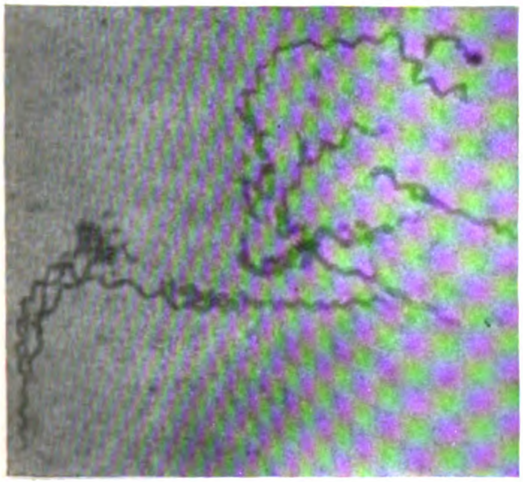

3

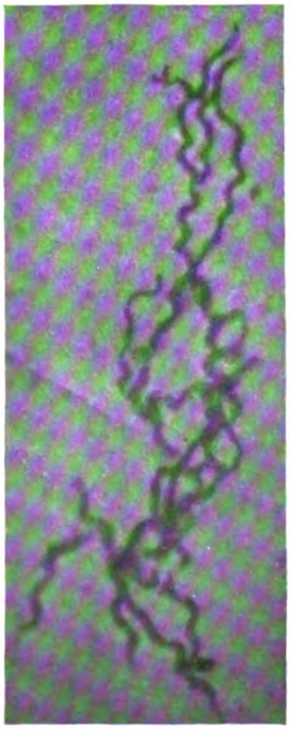

4

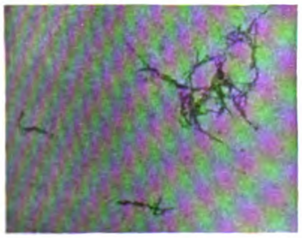

5


6


7


8


9


10

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Versuch I. Bestimmung der toxischen Dosis.

Maus No.	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag
1	0,0005 Emetin	gesund	gesund	gesund	gesund	gesund	gesund
2	0,001 „	gesund, 0,001 Emetin	„	„	„	„	„
3	0,001 „	gesund, 0,001 Emetin	gesund, 0,001 Emetin	kränklich	tot		
4	0,002 „	kränklich	tot				
5	0,003 „	schwerkrank	tot				

Die toxische Dosis liegt bei 0,002 g Emetin; diese Dosis wird aber ertragen bei 2maliger Injektion von je 0,001 g an 2 aufeinanderfolgenden Tagen.

Versuch II. Feststellung der kurativen Wirkung des Emetins.

6 Mäuse wurden mit 0,5 ccm Aufschwemmung von Trypanosomen subkutan infiziert. Nach angegangener Infektion wurden Mäuse 1, 2, 3 mit Emetin behandelt. Folgendes Protokoll zeigt das Resultat:

Maus No.	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag
1	Impfung mit Trypanosomen	0	+ 0,001 Emet.	0	1 Trypan. im Tropfen Blut	+	++	+++	++++	†
2	dgl.	0	+ 0,001 Emet.	+ 0,001 Emet.	+	++	+++	++++	†	
3	„	0	+ 0,001 Emet.	+ 0,001 Emet.	+	++	+++	†		
4 Kontr.	„	0	+	++	+++	†				
5	„	0	+	++	+++	++++	†			
6	„	0	+	++	+++	++++	†			

0 = keine Trypanosomen im Blute
+ = in 10—15 Gesichtsfeldern 1 Trypanosom
++ = in jedem Gesichtsfeld 1 Trypanosom
+++ = in jedem Gesichtsfeld mehr als 5 Trypanosomen
++++ = in jedem Gesichtsfeld massenhafte Trypanosomen
† = Exitus letalis

Man sieht aus dieser Tabelle, daß eine kurative Wirkung des Emetins nach angegangener Infektion mit Trypanosoma equiperdum nicht erzielbar ist. Nur bei Maus 1 verschwanden nach der Behandlung die Tryanosomen aus der Blutbahn, um sich nach 1 Tage wieder zu zeigen. Eine gewisse Wirkung ist aber doch vorhanden; die behandelten Tiere starben stets 2—3 Tage später als die Kontrollen. Nach diesem wenig erfolgreichen Versuch stellte sich nun die Frage, ob das Emetin bei noch frühzeitigerer Anwendung eine günstigere Wirkung auf die Trypanosomeninfektion haben könne. Es wurden daher 4 Mäuse mit 0,5 ccm Trypanosomenaufschwemmung infiziert und am nächsten Tage, bevor Trypanosomen sich im Blut gezeigt haben, 2 von ihnen mit 0,001 g Emetin behandelt. Das Ergebnis ist folgendes:

Maus No.	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag	11. Tag
1	Infektion	0 0,001 Emet.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	„	0 0,001 Emet.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 Kontr.	„	0	+	++	+++	+++	++++	++++	†		
4	„	0	0	+	++	+++	+++	++++	++++	†	

Maus No.	12. Tag	13. Tag	14. Tag	15. Tag	16. Tag	17. Tag	18. Tag	19. Tag
1	+ 0,001 Emet.	0	+ 0,001 Emet.	+	++	+++	+++	†
2	+ 0,001 Emet.	+ 0,001 Emet.	+	++	+++	++++	†	
3 Kontr.								
4								

Dieser Versuch zeigt, daß Emetin, auch frühzeitig angewandt, Mäuse vor einer Trypanosomeninfektion nicht schützt. Durch eine Dosis von 0,001 g Emetin. hydrochlor. und nachträgliche Verabreichung von 0,002 g desselben konnten die Mäuse nicht gerettet werden. Eine gewisse schützende Wirkung bestand immerhin darin, daß die so behandelten Tiere um 10 Tage später als die Kontrollen eingingen.

Versuch III.

Es wurden nun 6 Mäuse mit 0,2 ccm Trypanosomen-Aufschwemmung infiziert. 3 Mäuse wurden gleich danach mit 0,001 g Emetin behandelt. Am nächsten Tage bekamen die Tiere nochmals 0,001 g Emetin injiziert. Das Resultat war folgendes:

Maus No.	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag
1	Infektion 0,001 Emet.	0 0,001 Emet.	0	0	0	0	0	0	0
2	dgl.	0 0,001 Emet.	0	0	0	0	0	0	0
3	„	0 0,001 Emet.	0	0	0	0	0	0	0
4 Kontr.	.	0	0	+	++	+++	+++	++++	†
5	.	0	0	0	+	++	+++	++++	†
6	.	0	0	0	+	++	+++	+++	++++

Maus No.	10. Tag	11. Tag	12. Tag	13. Tag	14. Tag	15. Tag	16. Tag	17. Tag	18. Tag
1	0	+ 0,001 Emet.	+	++	+++	+++	++++	†	.
2	0	+ 0,001 Emet.	++	+++	++++	++++	†	.	.
3	0	0 0,001 Emet	0	+	++	+++	++++	++++	†
4 Kontr.	.								
5	.								
6	†								

Dieser Versuch zeigt, daß die gleichzeitig mit der Trypanosomeninfektion eingeleitete Emetintherapie die Tiere vor dieser Infektion nicht schützt. Die Wirkung bestand darin, daß die Tiere um mehrere Tage später als die Kontrollen der Infektion unterlagen.

Zusammenfassung.

Das Emetinum hydrochloricum übt bei Mäusen nach subkutaner Injektion auf die Trypanosomeninfektion (Tryp. equiperdum) eine geringe schützende Wirkung aus. Eine Heilwirkung, wie auf die Amöben-Dysenterie, besteht nicht; die Wirkung auf letztere scheint also ganz spezifisch zu sein.

Literatur.

1) **Wherry**, Journ. of infect. Dis. Vol. 10. 1912. H. 2.
2) **Roger**, Brit. med. Journ. July and August 1912.
3) **Vedder**, Trop. Dis. Bull. Vol. 1. 1912. H. 4.
4) **Baermann u. Heinemann**, München. med. Wochenschr. 1913. S. 1132.
5) **Dopter et Rouget**, Soc. méd. des hôpit., Sitzung 4. u. 18. April 1913.
6) **Wagner**, Med. Rec. Vol. 85. 1914. No. 5.
7) M. **Mayer**, München. med. Wochenschr. 1914. S. 241.

Nachdruck verboten.

Tierkohle als Ersatz für Eiereiweiss zur Klärung von Bakteriennährböden.

[Aus der Kgl. Bayr. Biolog. Versuchsstation für Fischerei München.]

Von **Gertrud Dietel.**

Die Beschaffung des in wohl der Mehrzahl der bakteriologischen Laboratorien zur Klärung, bzw. Erleichterung der Filtration der verschiedenen Bakteriennährböden (Bouillon, Gelatine, Agar) benützten Eiereiweißes, bzw. Eiweißpulvers dürfte zurzeit vielerorts auf Schwierigkeiten stoßen, überall jedenfalls, einen brauchbaren Ersatzstoff zu wissen, erwünscht sein.

Während Bouillon und Gelatine unter allen Umständen für den bakteriologischen Gebrauch vollständig klar sein müssen, kann man Nähragar meist ebensogut benützen, wenn er leicht trüb ist, wenn er nur dabei hell ist. Solchen Nähragar erhält man in einfacher Weise, wenn man den käuflichen Stangenagar, in kleine Stücke geschnitten, einige Zeit gegen Wasser dialysiert[1]), den so gereinigten Agar durch kurzes Kochen zur Lösung bringt und, ohne Klärung und Filtration, oder nur nach raschem Durchgießen durch ein Wattefilter[2]), mit den nötigen, eventuell für sich filtrierten, Zusätzen versetzt. Im übrigen ist zur Gewinnung klaren Nähragars eine Reihe von Methoden angegeben, die einen Eiweißzusatz, bzw. Filtration überflüssig machen.

---

1) Ausführliche Angabe der Herstellung derartig gereinigten Agars (insbesondere für „stickstoffarme Nährböden") siehe bei **Richter**, Die Ernährung der Algen. Leipzig (Klinkhardt) 1911. S. 31.

2) Die Watteschicht muß auf einem Drahtnetztrichter aufliegen, eventuell Drahtnetzeinsatz im Glastrichter.

Dominikiewics (1) reinigt den Agar vor der Zusetzung zum Nährsubstrat mit Alkohol. Rosam (2) präpariert den Agar mit Essigsäure, wodurch er leichter filtrierbar wird. Fränkel (3) läßt den Agar sedimentieren. Haegeler (4) benützt die Zentrifuge, während von Paul (5) ein aus mehreren Schichten Sand verschiedener Korngrößen konstruiertes Filter und von Barrucke (6) ein mit 4-facher Lage entfetteter Watte belegtes Filter für die Gewinnung klaren Agars angegeben sind. Für Gelatine und dergleichen ist von Bisserie (7) ein Leinenfilter beschrieben worden.

Alle genannten Methoden erreichen mehr oder minder umständlich ihren Zweck, die Klarfiltration des Agars.

Auf Vorschlag von Herrn Prof. Dr. Graf habe ich nun Versuche angestellt, an Stelle von Eiereiweiß Kieselgur oder Tierkohle als Klärmittel zu verwenden. Während die Versuche mit Kieselgur nicht befriedigend ausfielen, führten diejenigen mit Tierkohle zu dem gewünschten Ziele; es gelang durch Schütteln mit Tierkohle und nachherige Filtration, tadellos klare Nährböden-Bouillon, Gelatine und Agar zu gewinnen. Diese so hergestellten Nährböden ließen hinsichtlich ihrer Brauchbarkeit für das Wachstum der verschiedensten geprüften Bakterienarten gegenüber den entsprechenden, mit Eiereiweiß geklärten Nährmedien Unterschiede nicht erkennen. Folgende Vorschrift hat sich bewährt:

Bei Bouillon werden etwa 10 g Tierkohle auf 1 l Flüssigkeit zugesetzt und kräftig geschüttelt. Nach einigen Stunden wird durch ein gewöhnliches Faltenfilter filtriert; da das erste Filtrat meist noch nicht klar durchläuft anfangs, nochmals das erste, oder die ersten Filtrate zurückgegossen, so lange, bis die Bouillon ganz klar ist, was aber meist sehr rasch erreicht ist. Bei Gelatine nimmt man ebenfalls etwa 10 g Tierkohle auf das Liter verflüssigten Nährbodens; man muß aber hier die Tierkohle mit der Gelatine aufkochen und dann im Dampftopf filtrieren. Die Anfangsfiltrate müssen, wie bei der Bouillon, zurückgegossen werden, bis die Gelatine klar durchläuft. Bei Agar nimmt man ebenfalls 10 g auf das Liter, kocht mehrere Stunden im Dampftopf, ebenfalls unter eventueller Zurückgießung der ersten Filtrate. Jedoch sei nochmals auf die zweifelsohne einfachste und für die Mehrzahl der Fälle vollständig befriedigende, oben angegebene Art der Agarnährbödenbereitung hingewiesen.

Die angegebenen Klärverfahren können in jetziger Zeit, vielleicht aber auch in Friedenszeit, für die bakteriologische Nährbodentechnik empfohlen werden.

Literatur.

1) Wien. med. Wochenschr. Bd. 47. 1908. H. 5.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 12. 1904. H. 11/12.
3) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 10. 1886.
4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 17. 1895.
5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 16. 1894; Bd. 29. 1901. — München. med. Wochenschr. 1901.
6) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906. H. 4.
7) Ann. de l'Instit. Pasteur. 1907. No. 3.

Nachdruck verboten.

Das Bierastsche Petrolätherverfahren als Hilfsmittel zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbazillen im Stuhl.

[Aus dem Hygiene-Institut der Kgl. Universität Greifswald (Direktor: Professor Dr. E. Friedberger).]

Von Dr. **A. Heyn**, Assistent am Institut.

Schon verhältnismäßig kurze Zeit nach der ersten Veröffentlichung seines Petrolätherverfahrens zur Typhusdiagnose (1) konnte Bierast in einem Sammelreferat (2) über die bestätigenden Resultate mehrerer Nachuntersucher berichten [Schmitz (3), Jaffé (4), Hall (5)].

Angesichts der scheinbar recht vielversprechenden Ergebnisse dieser Methode und der Wichtigkeit und Schwierigkeit einer exakten bakteriologischen Typhusdiagnose aus dem Stuhl, andererseits bei der geringen Anzahl von Stuhluntersuchungen einzelner Autoren (Schmitz berichtet von nur 10, Jaffé von 14 Untersuchungen) erschien eine Nachprüfung und die Veröffentlichung der Resultate bei einer immerhin ganz ansehnlichen Zahl von Stuhluntersuchungen mit dem Petrolätherverfahren und der direkten Aussaat nebeneinander als erwünscht. Nach Abschluß unserer Versuche sind noch einige Arbeiten erschienen, die über weniger günstige Resultate bei der Anwendung des Petroläthers berichten [v. Wiesner (6) und P. Th. Müller (7 u. 8)]. Ersterer ist geneigt, als Ursache die wechselnde Reinheit des käuflichen Petroläthers anzunehmen. Zu ähnlichen Erwägungen kommt P. Th. Müller, der zugleich als einen wesentlichen Faktor seiner noch relativ günstigen Resultate den rein mechanischen Vorgang des eine Viertelstunde lang fortgesetzten Schüttelns und die dadurch bedingte feine Verteilung des Faeces ansieht.

I.

Schon theoretisch ist das Verfahren von größtem Interesse, da wir in dem Petroläther ein Mittel besitzen, das ganz elektiv die Coli-Bazillen schädigt, während es die ihnen so nahe verwandten und sonst viel weniger widerstandsfähigen Vertreter der Typhusgruppe gar nicht oder doch in viel geringerem Maße anzugreifen vermag.

Durch einen einfachen Versuch konnte Bierast das beweisen. Er schüttelte ein Gemisch von Typhusbazillen und Coli mit Petroläther im Reagenzglas einige Minuten lang, nach 15 Minuten nochmals einige Minuten und ließ das Röhrchen etwa 15 Stunden bei Zimmertemperatur, gegen Licht geschützt, stehen. Eine nach dieser Zeit angelegte Platte — das Material wird mit steriler, geschlossen eingeführter Kapillarpipette entnommen — zeigte reichliche Typhuskolonien, während die Coli-Kolonien sehr spärlich waren oder ganz fehlten. Selbst bei Bakteriengemischen, bei denen das Bact. coli auf der Kontrollplatte die Typhusbazillen vollkommen überwucherte, ließen sich nach der Petrolätherbehandlung die Typhusbazillen reichlich nachweisen.

Ganz ähnlich verhält sich der Paratyphus A und B, während die Paracoli-Stämme eine Mittelstellung einnehmen sollen; je mehr sich ein Coli-Stamm in seinen biologischen Eigenschaften von dem typischen Coli entfernt und dem Typhus- oder Paratyphuskeim nähert, um so größer ist seine Widerstandsfähigkeit gegen Petroläther.

Von den Ruhrstämmen sollen sich die toxischen Stämme vom Typus Shiga-Kruse ziemlich resistent gegen Petroläther, die atoxischen (Flexner, Hiss, Strong) empfindlich verhalten (Bierast, Jaffé, Hall), so daß sogar an eine Verwertbarkeit der Petroläthermethode zur Untersuchung von Ruhrstühlen gedacht worden ist.

Im folgenden gebe ich in einer Tabelle die Ergebnisse wieder, die eine Untersuchung über den Einfluß des Petroläthers auf eine Anzahl normaler und pathologischer Stuhlkeime in Reinkulturen gezeitigt hat. Die Versuche sind genau nach dem oben beschriebenen Verfahren Bierasts angestellt worden. Besonderes Gewicht ist auf die Ruhrstämme gelegt worden, um einen etwaigen Einfluß sicherzustellen. Es wurde je eine Oese Schrägagarkultur in 5 ccm Bouillon verrieben, eine Kontrollplatte angelegt und dann die Behandlung mit Petroläther vorgenommen. Die Bouillon gestattet, infolge der langsameren Trennung der beiden Flüssigkeiten nach dem Schütteln, eine intensivere Wirkung des Petroläthers auf die Bakterien.

Tabelle I.

Stamm	Kontroll-platte	Aussaat 12 Stdn. nach der P.Ae.[1]-Behandlung	Stamm	Kontroll-platte	Aussaat 12 Stdn. nach der P.Ae.-Behandlung
1. Typhus 1687	üppig	ungehemmt	16. Flexner II	üppig	stark gehemmt
2. „ 1884	„	„	17. „ III	„	„ „
3. Paratyph. A I	„	„	18. B. enteritidis Gärtn.	„	ungehemmt
4. „ A II	„	„			
5. „ B I	„	deutl. gehemmt	19. Fleischvergiftung M.	„	„
6. „ B II	„	ungehemmt			
7. Coli 10	„	steril	20. Dgl. D.	„	„
8. „ I	„	deutl. gehemmt	21. Cholera Ha.	„	steril
9. „ III	„	steril	22. B. faecalis alcalig.	„	wenig gehemmt
10. Shig.-Kruse I	„	wenig gehemmt			
11. „ 1716	„	stark gehemmt	23. Prot. vulg.	„	ungehemmt
12. „ III	„	steril	24. Streptococc.	„	„
13. Y-Ruhr I	„	„	25. Staphylococcus	„	„
14. „ 2048	„	„			
15. Flexner I	„	„	26. Subtilis	„	„

Wie man sieht, weisen von den untersuchten Kulturen, außer den Coli-Stämmen — sicher abgegrenzte Paracoli-Stämme standen nicht zur Verfügung —, nur die Choleravibrionen und die verschiedenen, als Erreger der Ruhr angesprochenen Bakterien eine weitgehende Schädigung durch Petroläther auf, und zwar auch die vom Typus Shiga-Kruse, so daß die Versuche mit den Reinkulturen uns nicht ermutigten, das Petrolätherverfahren auch bei der bakteriologischen Diagnose der Ruhr anzuwenden. Dagegen werden die der Typhusgruppe nahestehenden Fleischvergifter und das Bact. enteritidis Gärtner, wie Typhus, vom Petroläther wenig beeinflußt.

Worauf die elektive Schädigung beruht, ist zurzeit noch unklar. Bierast nimmt an, daß die Membran des Bact. coli, im Gegensatz zu der des Typhus- und Paratyphuskeims, Stoffe irgendwelcher Art enthält, die durch Petroläther zerstört werden. Die Folge davon soll das Absterben der Zelle sein. Nach Gestalt und Färbbarkeit wird das Bact. coli durch Petroläther jedoch nicht verändert.

Der Petroläther und die Kohlenwasserstoffe überhaupt sind freilich schon seit Jahren zur Scheidung von Bakteriengemischen angewandt worden, doch hat man hier die Trennung ausschließlich auf physikalische Momente zurückgeführt, denen bei dem Bierastschen Verfahren keine oder nur eine sehr untergeordnete Bedeutung zugesprochen worden ist.

---

[1] P.Ae. = Petroläther.

Lange und Nitsche (9) benutzten die Adhäsion der Kohlenwasserstoffe auf die säurefesten, lipoidreichen Tuberkelbazillen, um die letzteren aus Bakteriengemischen (Sputum) zu isolieren, und wiesen die Tuberkelbazillen nach kräftigem Durchschütteln mit Ligroin in der Grenzschicht zwischen beiden Medien nach. Später (10) zeigten sie, daß eine ganze Anzahl von Bakterienarten sich auf diese Weise mit Ligroin ausschütteln läßt (Meningococcus, Gonococcus, Micrococcus catarrhalis, Diphtherie- und Pseudodiphtherie-, Tuberkel- und Milzbrandbazillen).

Es werden hier die Bakterien durch die an ihnen haftenden und aufsteigenden, feinen Ligrointröpfchen hochgerissen und an der Grenzschicht festgehalten. Eine Schädigung der betreffenden Bakterien darf man nicht ohne weiteres annehmen.

Das Verhalten der Diphtheriebazillen gegenüber den Kohlenwasserstoffen benutzte dann Conradi (11) zur Diphtheriediagnose. Er spülte einen Diphtherietupfer in physiologischer Kochsalzlösung aus, schüttelte das erhaltene Bakteriengemisch mit Petroläther aus und übertrug mit Hilfe eines Oelstabes die Diphtheriebazillen aus der Petrolätherschicht auf eine Platte.

Ganz von der Hand zu weisen war es nicht, einen ähnlichen Vorgang bei der Trennung der Coli- und Typhuskeime im Gemisch anzunehmen, und ich versuchte, unter Anwendung des Conradischen Oelstabes, zu ermitteln, ob nicht doch etwa ähnliche physikalische Momente mitsprächen. Zur Kontrolle des Verfahrens machte ich den gleichen Versuch mit einer Diphtheriebazillenkultur. Die nachstehende Tabelle zeigt, daß man auf diese Weise keine Erklärung des Phänomens erbringen kann.

Tabelle II.

	Diphtherie	Typhus	Coli	Subtilis	Prot. vulg.	Staphylococcus
Petrolätherschicht	+++	+	+	+	+	+
Kochsalzlösung	—	+++	+++	+++	+++	+++

Es wurde in dieser Versuchsreihe je eine Oese Kultur in 5 ccm NaCl-Lösung verrieben, eine Kontrollplatte angelegt, die in allen Fällen reichliches Wachstum ergab, und dann die Aufschwemmung einen Finger breit mit Petroläther überschichtet und 3—5 Minuten geschüttelt. Nach 10 Minuten hatten sich makroskopisch beide Schichten wieder getrennt, und nun wurden aus beiden Kulturen angelegt, aus der Petrolätherschicht wurde das Material mit dem Conradischen Oelstab (Technik siehe dort), aus der unteren mit einer geschlossen eingeführten Kapillarpipette entnommen. Schon makroskopisch fiel auf, daß die Diphtherie-Kochsalzaufschwemmung nach dem Schütteln ganz klar wurde, während bei den übrigen Aufschwemmungen die Trübung bestehen blieb. Die Plattenkultur bestätigte dann die schon von Lange und Nitsche mit Ligroin gemachten Erfahrungen.

Es wurde dann noch folgender Versuch angestellt, der zeigt, daß die Coli-Bazillen nach der Petrolätherbehandlung tatsächlich allmählich aus der Suspensionsflüssigkeit verschwinden. (S. Tab. III, S. 188.)

Auffallend war bei diesem Versuch noch, daß die auf den Endo-Platten gewachsenen Coli-Kolonien durch die Petroläthereinwirkung so geschädigt waren, daß die Säurebildung zunächst hintangehalten wurde. Während die Kontrollplatten und die Platte, die nach 10 Minuten angelegt wurde, nach 16—20 Stunden eine kräftige Säurebildung durch

Tabelle III.

	Kontrollplatte	Aussaat auf Endo-Platten nach Petrolätherbehandlung nach				
		10 Min.	2 Stdn.	4 Stdn.	8 Stdn.	12 Stdn.
1 Oese Coli[1] in 5 ccm Bouillon	+++	+++	.	.	.	.
dgl.	+++	.	+	.	.	.
„	+++	.	.	+	.	.
„	+++	.	.	.	10—15 Kol.	.
„	+++	.	.	.	.	steril

hochrote, metallisch glänzende Kolonien anzeigten, brauchten die anderen Platten bis zu 2mal 24 Stunden, um den gleichen Farbenton zu erlangen.

Hall untersuchte noch den Einfluß verschiedener Kohlenwasserstoffe auf die Coli-Typhusgruppe und konnte die Resultate Bierasts bestätigen, daß die Wirkung auf die Coli-Bazillen um so intensiver ist, je niedriger der Siedepunkt liegt. Mit Recht wird deshalb auf den niedrigen Siedepunkt des Petroläthers (40°) Gewicht gelegt. Noch kräftiger abtötend wirkt nach Hall das Pentan, der niedrigste Kohlenwasserstoff aus der Reihe der Paraffine, der bei gewöhnlicher Temperatur flüssig ist, mit einem Siedepunkt von 38°. Es eignet sich aber wegen seines Preises kaum für Massenuntersuchungen. Es scheinen demnach bei dem Bierastschen Verfahren im wesentlichen Momente chemischer Natur in Betracht zu kommen, die das Bact. coli schädigen, während sie die Vertreter der Typhusgruppe unberührt lassen.

Die Frage, weshalb der Petroläther den Coli-Bacillus abtötet, muß zurzeit noch offen bleiben. Die von Bierast angenommene Membranschädigung des Bact. coli ist nur eine Hypothese.

II.

Ich komme jetzt auf die praktische Stuhluntersuchung. Es handelt sich um 80 Stuhlproben, außer um positive auch um typhusverdächtige Fälle. Es wurde eben während eines gewissen Zeitraumes jeder zur Untersuchung auf Typhus eingesandte Stuhl gleichzeitig mit dem gewöhnlichen Ausstrichverfahren und der Petroläthermethode untersucht. Als Plattenmaterial wurden Endo- und Drigalski-, teilweise auch Malachitgrünnährböden verwandt.

Was das Petrolätherverfahren anbetrifft, so wurde zuerst genau nach der Vorschrift Bierasts gearbeitet. Es traten aber, infolge der hierdurch bedingten unliebsamen Verzögerung der Plattenuntersuchung um 24 Stunden, Schwierigkeiten in der exakten Vergleichung des Verfahrens mit der einfachen Ausstrichmethode ein. Da nämlich das einen Tag früher erzielte Ergebnis mit der direkten Aussaat auf die Untersuchung der nach der Petrolätherbehandlung des Stuhls angelegten Platten psychisch nicht vollkommen auszuschalten war, sondern den Untersucher leicht voreingenommen machte, wurden weiterhin alle Untersuchungen nach den Angaben Halls angestellt, wobei die gleichzeitige Untersuchung der Platten ermöglicht wurde.

---

1) Um die Versuchsbedingungen nicht durch die wiederholte Entnahme mit der Pipette zu ändern, wurden 5 gleiche Aufschwemmungen gemacht, von denen jede nach der angegebenen Zeit untersucht wurde.

Nach dem Anlegen der Platten durch direkte Aussaat wurde der durchschnittlich 2—3 ccm betragende Inhalt des eingesandten Stuhlgefäßes mit Bouillon in ein Pulverglas mit Glasstöpsel gespült und gut verrieben. Die Aufschwemmung wurde mit Petroläther in der Schüttelmaschine $1/_2$ Stunde geschüttelt, 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und zur Plattenaussaat verarbeitet. Ein Unterschied bei beiden Petroläthermethoden konnte nicht festgestellt werden, so daß man dem Hallschen Verfahren wegen der Zeitersparnis den Vorzug geben wird.

Bei den 80 untersuchten Fällen wurden

Typhusbazillen nachgewiesen sowohl durch direkte Aussaat als durch die Petroläthermethode . . .	in 13 Fällen
Paratyphus B-Bazillen sowohl durch direkte Aussaat als durch die Petroläthermethode	„ 2 „
Typhusbazillen nur durch die Petroläthermethode	„ 5 „
„ „ „ direkte Aussaat	„ 1 Falle.

Wenn auch dieses Ergebnis schon ganz erfreulich ist, so bleibt es doch weit hinter den Resultaten zurück, die Bierast in seinem Sammelreferat zusammenstellt, wobei von den im ganzen untersuchten 93 sicheren Typhusfällen 19mal die Erreger mit beiden Verfahren, 13mal nur durch die Petrolätherbehandlung des Stuhles gefunden wurden. Dort haben wir über $1/_2$mal (ca. 68 Proz.) mehr positive Bakterienbefunde mit dem Petrolätherverfahren gegenüber der direkten Aussaat, als bei unseren Untersuchungen, wo nur in $1/_4$mal so viel (25 Proz.) mehr der Fälle der Erreger nur durch die Behandlung des Stuhls mit Petroläther gefunden wurde. Daß in unserem Falle auch typhusverdächtige Stuhlproben mitgerechnet sind, während sich die Zahlen bei Bierast nur auf positive Typhusfälle beziehen, ist kaum Grund genug für das weniger günstige Ergebnis. Aber auch schon so bedeutet es doch ein leidlich befriedigendes Resultat, das ermutigen kann, in besonderen Fällen das Petrolätherverfahren anzuwenden.

Wenn man die nach beiden Methoden angelegten Platten miteinander vergleicht, so muß der Unterschied im Coli-Wachstum sofort auffallen. Bei den nach der Petrolätherbehandlung des Stuhls angelegten Platten sieht man oft gar keine oder nur spärliche Coli-Kolonien[1]). Daneben finden sich gewöhnlich auf diesen Platten die Typhuskolonien in viel reichlicherer Zahl, als auf den durch die direkte Aussaat gewonnenen.

Damit werden die mit den Reinkulturen erzielten Ergebnisse durch die Praxis der Stuhlbehandlung mit Petroläther bestätigt. Der Methode würde eine recht große Bedeutung in der Typhusdiagnose zugesprochen werden müssen, wenn nicht ein Uebelstand dabei wäre. Das ist das häufig zu reichliche Wachstum der Stuhlkokken auf den nach der Petrolätherbehandlung angelegten Stuhlplatten. Schon Hall weist auf diesen Punkt hin und erklärt, daß in diesen Fällen durch die schwierige Trennung der Typhus- von den Kokkenkolonien die Diagnose häufig Verzögerung erleidet. Es kommen in der Tat gar nicht selten Platten vor, die von Kokken so überwuchert sind, daß man die oft gleichzeitig reichlich gewachsenen Typhuskolonien nur mit großer Mühe zur weiteren diagnostischen Untersuchung (Agglutination etc.) isolieren kann. Man kommt dann leichter und schneller zum Ziel bei der Verarbeitung weniger, aber einzeln stehender Typhuskolonien auf den Platten der direkten Aussaat.

---

[1]) Hier ist allerdings die verspätete Rötung (s. S. 188) zu beachten.

Schließlich habe ich noch beide Verfahren nebeneinander bei der Untersuchung künstlicher Typhusstühle angewandt, ohne mir über die nur bedingte Verwertbarkeit eines solchen Versuches im unklaren zu sein. Die kleine Zusammenstellung zeigt, daß die Resultate mit den nach der Petrolätherbehandlung normaler Typhusstühle gewonnenen Ergebnissen übereinstimmen:

Tabelle IV.

Stuhlaufschwemmung	Zusatz von Typhusbazillenaufschwemmung, in Oesen angegeben				
	1	3	5	7	10
durch direkte Aussaat nachgewiesen	—	3—4 Typhuskolonien	5—6 Typhuskolonien	+	+
nach der P.Ae.-Behandlung nachgewiesen	+	+	+	++	++

Die Stuhlaufschwemmung wurde aus normalem Stuhl hergestellt, der mit physiologischer NaCl-Lösung so dünn verrieben wurde, daß eine gleichmäßige Verteilung der zugesetzten Typhusbakterien gewährleistet wurde. Zu je 5 ccm derartigen Stuhls wurden von einer Typhusaufschwemmung (1 Oese auf 10 ccm NaCl-Lösung) 1, 3, 5, 7 und 10 Oesen hinzugesetzt. Von diesen verschiedenen Stuhl-Typhusgemischen wurden, zunächst durch direkte Aussaat, Platten angelegt, der Rest dann mit Petroläther geschüttelt und weiter zu Platten verarbeitet. Coli-Kolonien waren gar nicht oder spärlich gewachsen.

Bei der Typhusstuhluntersuchung in der Praxis kommt dem Petrolätherverfahren noch der Umstand zugute, auf den auch P. Th. Müller hinweist, daß es sehr wohl möglich ist, daß allein durch die Verreibung und Verdünnung fester Stuhlmengen und die intensive Schüttelung die Typhusbazillen gleichsam mechanisch aus dem Kot aufgeschlossen werden, so daß es denkbar wäre, daß allein schon durch diese Maßnahme hier und da auch ohne besondere Petrolätherbehandlung eine Untersuchung positiv ausfällt, wo das direkte Plattenausstrichverfahren ein negatives Resultat ergeben hat. Hierüber bleiben weitere Untersuchungen vorbehalten.

Der nicht zu unterschätzende Uebelstand des üppigen Kokkenwachstums und die umständliche Art der Petrolätherbehandlung wird einer allgemeinen Einbürgerung der Methode bei Massenuntersuchungen wahrscheinlich stets im Wege stehen.

Man wird, und zu dieser Ansicht neigen wohl auch die meisten anderen Untersucher, die Petrolätherbehandlung des Stuhls im wesentlichen auf jene Fälle beschränken, wo der Verdacht auf Bazillenträger oder Dauerausscheider besteht, und man mit der direkten Aussaat nicht zu einem befriedigenden Ergebnis kommt. In diesem Falle wird möglicherweise auch nach unseren Resultaten das Verfahren der Petrolätherbehandlung des Stuhls noch in einem mehr oder weniger großen Prozentsatz den Nachweis der Typhus- oder Paratyphuskeime erbringen können.

Daß man das Verfahren auf die bakteriologische Ruhrdiagnose wird ausdehnen können, möchte ich nach unseren Untersuchungen mit Reinkulturen nicht annehmen. Alle, auch die toxischen, Stämme werden durch den Petroläther derartig geschädigt, daß man auf ein Wachstum bei spärlichem Keimgehalt im Stuhl auf den nachher angelegten Platten nicht mehr rechnen kann.

Literatur.

1) Bierast, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. S. 348.
2) —, Berlin. klin. Wochenschr. 1916. No. 20.
3) Schmitz, München. med. Wochenschr. 1914. Feldärztl. Beilage. No. 42.
4) Jaffé, Wien. klin. Wochenschr. 1915. No. 16.
5) Hall, Berlin. klin. Wochenschr. 1915. No. 52.
6) v. Wiesner, Wien. klin. Wochenschr. 1916. No. 46.
7) P. Th. Müller, München. med. Wochenschr. 1916. No. 21.
8) —, Ebenda. 1917. No. 1.
9) Lange u. Nitsche, Deutsch. med. Wochenschr. 1909. No. 10.
10) — —, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 67. 1910. S. 151.
11) Conradi, München. med. Wochenschr. 1913. No. 20.

Nachdruck verboten.

Eine neue Methode der Sporenfärbung nebst Bemerkung über säurefeste Granula in sporenhaltigen Bakterien.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Greifswald (Direktor: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Von **Ivar Lagerberg**, Stockholm.

Mit 1 Tafel.

Die zahlreichen Methoden der Sporenfärbung um eine weitere zu vermehren, liegt an sich wohl kaum ein Bedürfnis vor. Wenn ich gleichwohl eine neue mitteile, so geschieht es deshalb, weil sie vor den meisten übrigen den Vorzug größerer Einfachheit besitzt (die Nachfärbung fällt weg) und außerdem auch die sichere Färbung älterer Sporen und der Sporenarten gestattet, die wegen ihrer besonderen Sprödigkeit mit anderen Methoden sich nur schwer färberisch darstellen lassen.

Da die Auflockerung der Sporenmembran durch ein dafür geeignetes Mittel die Hauptbedingung für das Gelingen der Sporenfärbung ist, wurde versucht, die Sporenmembran, die möglicherweise einen celluloseähnlichen Stoff enthält, mit einem Lösungsmittel der Cellulose, der ammoniakalischen Kupferoxydlösung, zu behandeln[1]. Einige Versuche mit dieser frisch bereiteten Flüssigkeit lieferten jedoch keine Ergebnisse. Erst bei einer zufälligen Herstellung der Lösung direkt auf dem Präparat aus Kupfersulfat und Ammoniak kam eine auffallende Veränderung der Färbbarkeit der Sporen zustande. Da die fertige Kupferoxydammoniaklösung ganz unwirksam ist, während die auf dem Präparat selbst stattfindende Ausfällung und Lösung des Kupferhydrats in Ammoniak so vorzügliche Resultate liefert, so ist vielleicht das Zustandekommen des Kupferhydrats in statu nascendi notwendig.

Es wurde nun schließlich, unter Verwendung gesättigter Kupfersulfatlösung und konzentrierter Ammoniaklösung, wie folgt verfahren:

---

[1] Es scheint, als ob gerade diese gesättigte ammoniakalische Kupferlösung, in der noch ein Ueberschuß von ungelöstem Hydrat vorhanden ist, eine besonders kräftige Lockerung der Sporenmembran bedingt.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Das sporenhaltige Material, am besten auf einem Objektträger ausgestrichen, und in der Flamme in üblicher Weise fixiert, wird zuerst mit der Kupfersulfatlösung übergossen.

Unter vorsichtigem Erwärmen über einer kleinen Flamme setzt man tropfenweise Ammoniak zu, bis zur völligen Lösung des ausgefällten Kupfersulfates. (Das Auftreten schwarzer Niederschläge von Kupferoxyd ist Folge von zu starker Erwärmung und muß unbedingt vermieden werden.) Es ist dann zweckmäßig, unter weiterem Erwärmen noch 1—2 Tropfen Kupfersulfat zur ammoniakalischen Lösung hinzuzufügen, um diese ganz gesättigt zu erhalten. Einwirkungsdauer ca. 30 Sekunden.

Danach Auswaschen mit Ammoniak, um ungelöstes Kupferhydrat zu entfernen, Wasserspülung; Färbung mit Karbolfuchsin unter 1- bis 2maligem Aufkochen; Entfärbung in 3—5-proz. Schwefelsäure 1 bis 2 Sekunden; Wasserspülung. Gegenfärbung ist nicht nötig und bietet keine Vorteile, da die Bakterien schon an sich eine bläuliche Farbe zeigen, die gegen die kräftig rot gefärbten Sporen sich gut abhebt (s. Taf. Fig. 1).

Diese Methode der Sporenfärbung lieferte nun einen, für die Beurteilung der Sporenentstehung recht interessanten Nebenbefund. Schon bei ganz jungen Kulturen, bei denen im ungefärbten Präparat und bei anderen Färbungen noch keine Sporenbildung nachweisbar war, ließen sich säurefeste Granula in charakteristischer Lagerung im Innern der Bakterien nachweisen. Sie konnten auch bei asporogenem Milzbrand, der dem Institut in dankenswerter Weise von Herrn Prof. Sobernheim zur Verfügung gestellt war, zur Darstellung gebracht werden. (Siehe Tafel Fig. 2.)

Tafelerklärung.

Sämtliche Präparate sind gleichmäßig mit Karbolfuchsin gefärbt und mit 5-proz. Schwefelsäure entfärbt. Die mit b bezeichneten sind vor der Färbung mit ammoniakalischer Kupferlösung behandelt, die mit a bezeichneten nicht, das Präparat IV ist noch mit Methylenblau gegengefärbt.

1. Bacillus mesentericus, 14 Tage alte Kultur. Färbung Karbolfuchsin; Entfärbung 5-proz. Schwefelsäure; keine Nachfärbung.
2. I. Bacillus subtilis, 6 Stunden alte Kultur bei 37°.
   II. Bacillus mesentericus, 3 Stunden alte Kultur bei 37°.
   III. Bacillus anthracis, sporogen, 6 Stunden alte Kultur bei 37°.
   IV. Bacillus anthracis, asporogen, 2 Tage alte Kultur bei 37°.

Inhalt.

Börnstein, P., Ein Fall von epidemischer Genickstarre bei allgemeiner Miliartuberkulose, S. 172.

Dietel, Gertrud, Tierkohle als Ersatz für Eiereiweiß zur Klärung von Bakteriennährböden, S. 183.

Ditthorn, Fritz, und **Schultz, Werner,** Ein Anreicherungsverfahren für den Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum, S. 166.

Heyn, A., Das Bierastsche Petrolätherverfahren als Hilfsmittel zum Nachweis von Typhus und Paratyphusbazillen im Stuhl, S. 185.

Kalthoff, Max Heinrich, Ueber die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen und serologischen Typhusdiagnose, S. 145.

Lagerberg, Ivar, Eine neue Methode der Sporenfärbung nebst Bemerkung über säurefeste Granula in sporenhaltigen Bakterien, S. 191.

Reiter, Hans, Ueber die Spirochaete forans, S. 176.

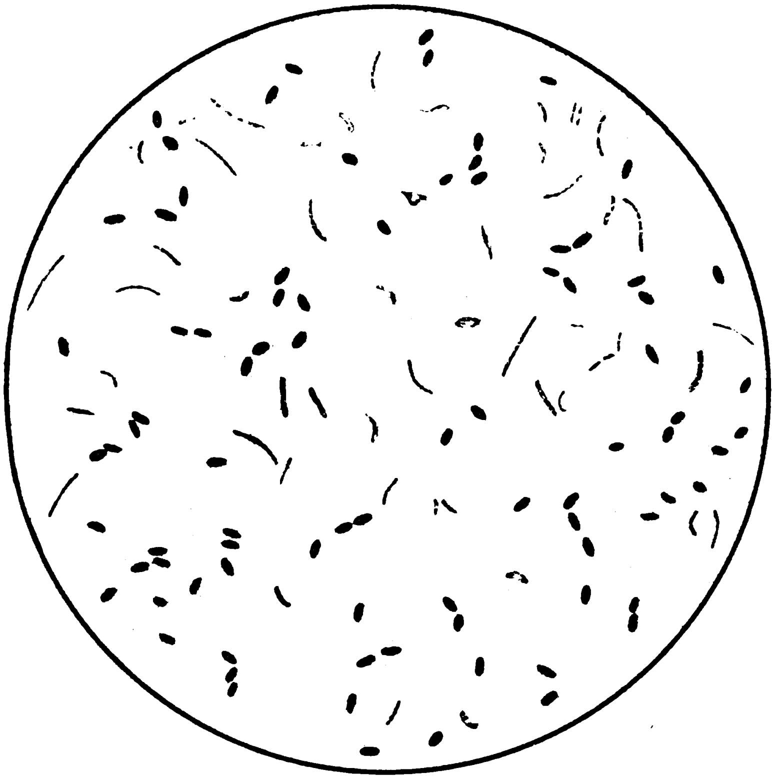
Schuscha, A. T., Ueber den Nachweis von Typhusbazillen in Wasser und Milch mittels Petroläthers, S. 161.

Schuscha, A. T., Ueber die Wirkung von Emetinum hydrochloricum auf Trypanosomen, S. 180.

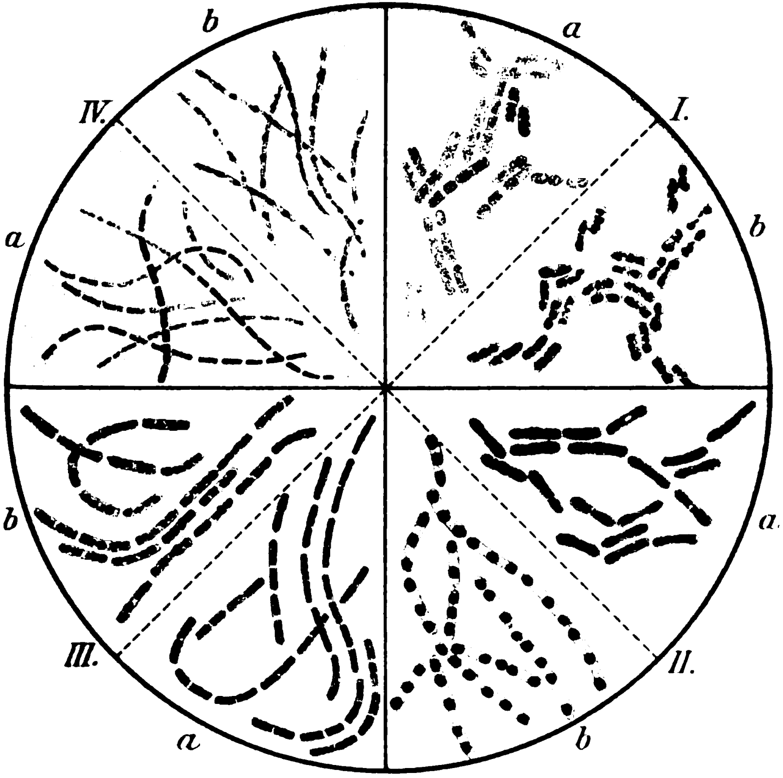
Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 79. *Lagerberg, Sporenfärbung.*

1.



2.


b
a
IV.
I.
a
b
b
a
III.
II.
a
b

Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 79. Heft 5.

Ausgegeben am 23. Mai 1917.

Nachdruck verboten.

Eine Verbesserung des Galleanreicherungsverfahrens zum Bazillennachweise im Blute bei typhösen Erkrankungen.

[Aus dem k. und k. bakteriologischen Laboratorium des Garnisonspitales No. 3 in Przemysl (Kommandant: Oberstabsarzt Dr. Pap.)]

Von Dr. **Robert Koritschoner,** k. u. k. Oberarzt,
Vorstand des Laboratoriums.

In den während des Krieges äußerst zahlreich erschienenen Arbeiten über Typhus begegnen wir immer wieder der Angabe, daß die Typhusdiagnose durch die geringere Verwertbarkeit der Widalschen Reaktion und die oft versagende Blutkultur bedeutend erschwert erscheint. Während im Frieden der Prozentsatz der positiven Blutbefunde von den meisten Autoren mit ca. 90 Proz. angegeben wurde, sank derselbe im Kriege bedeutend, nach einigen Angaben sogar bis auf 50 Proz.

Es ist mir leider nicht möglich, genaue Daten anzuführen, da mir hier die einschlägige Literatur nicht zugänglich ist.

Meine eigenen Beobachtungen erstrecken sich auf ein beträchtliches Material innerhalb eines Zeitraumes von $1^1/_2$ Jahren, und wenn ich auch keine genauen Zahlen anführen kann, da mir vielfach die klinischen Daten nicht zur Verfügung standen, so glaube ich dennoch, sagen zu können, daß meine bisherigen Resultate sich in derselben Höhe bewegen dürften.

Mit einer Modifikation der üblichen Galleanreicherungsmethode (Einfließenlassen des Venenblutes in ein Galleröhrchen) ist es gelungen, fast bei allen klinisch verdächtigen Fällen einen positiven bakteriologischen Befund zu erheben.

Die Ausführung der Methode gestaltet sich folgendermaßen:

Ca. 10 ccm Blut werden aus einer Armvene steril entnommen und in einer sterilen Eprouvette aufgefangen. Das Blut wird einige Stunden, bis zum vollständigen Absetzen des Serums, stehen gelassen, hierauf das Serum, welches zur Ausführung der Agglutinationsprobe verwendet werden kann, abgehebert, der zurückbleibende Blutkuchen mit einem sterilen Glasstabe weitmöglichst zerkleinert oder mit einer sterilen Schere zerschnitten, und die Koagulumsteile werden mit physiologischer Kochsalzlösung übergossen. Die Eprouvette wird mit einem sterilen Kautschukstöpsel verschlossen und die Flüssigkeit nach kräftigem Schütteln und Absetzenlassen abgegossen. Dieser Vorgang wird 5—6mal wiederholt; die gewaschenen Gerinnsel werden mit Galle übergossen und nach 24- resp. 48-stündiger Bebrütung auf Drigalski-Platten überimpft.

Bei der Verarbeitung des Blutes ist auf strenge Asepsis zu achten; nicht so sehr wegen etwaiger Verunreinigungen, die bei der spezifischen Wirkung der Galle kaum ins Gewicht fallen, wie wegen der Gefahr der Infektion des Arbeitenden mit dem hochinfektiösen Material.

Von den Blutproben, welche innerhalb eines Zeitraumes von 4 Monaten von der hierortigen Infektionsabteilung eingesandt wurden, und nur diese konnten berücksichtigt werden, da mir die genauen klinischen Daten zur Verfügung standen, ergaben nach der üblichen Galleanreicherung 60 ein negatives Resultat. Bei 20 von diesen handelte es sich, wie teils die Obduktion zeigte, um anderweitige fieberhafte Erkrankungen. Selbstverständlich wurde bei diesen Fällen auch mit der modifizierten Methode kein positives Ergebnis erzielt. Bei den restlichen 40 Fällen konnte jedoch 37mal die Anwesenheit der Krankheitserreger im Blute nachgewiesen werden, und zwar 13mal Typhusbazillen, 24mal Bac. paratyphi B. Bei den 3 negativen Fällen handelte es sich 2mal um bereits weit vorgeschrittene Fälle von Typhus, resp. Paratyphus am Ende der Fieberperiode, bei denen schon nach dem klinischen Bilde kein anderes Resultat zu erwarten war. Der 3. Fall, ein rezenter Typhus, muß allerdings als Fehlresultat gebucht werden. Dieser Fall beweist, meiner Ansicht nach, die wiederholt geäußerte Annahme, daß es doch Fälle gibt, die sich zwar klinisch nicht von anderen unterscheiden, bei denen es aber doch zu keiner nachweisbaren Bakteriämie kommt.

Nach Beendigung der Untersuchungen kam ein Fall zur Beobachtung, der diese Vermutung in zweifelloser Weise bestätigte. Es handelte sich um einen klinisch sicheren Typhus, der ein schwer toxisches Bild bot, und bei dem eine mehrfach wiederholte bakteriologische Untersuchung des Blutes auch nach unserer Methode ergebnislos blieb. Auffallend war der Umstand, daß trotz der Schwere des Krankheitsbildes nur ganz vereinzelte Roseolen nachgewiesen werden konnten. Der Patient kam ad exitum, und bei der Sektion fand sich das typische Bild eines Typhus im Stadium der Schorfbildung mit zahlreichen frischen Herden im Stadium der markigen Schwellung. Die Milz war beträchtlich vergrößert, doch konnten in derselben Typhusbazillen nicht nachgewiesen werden.

Der Wert der Methode erwies sich bei einer hier aufgetretenen Paratyphusendemie, bei der erst mit dem gewöhnlichen Verfahren beim 5. Fall die Bazillen im Blute nachgewiesen werden konnten, während wir schon beim ersten aufgetretenen Fall mit unserem Verfahren bakteriologisch die Diagnose sicherstellten.

Noch auffallender war der Erfolg bei einer hier und da in der Umgebung plötzlich einsetzenden Massenerkrankung von weit über 100 Fällen, die alle durch hohes, aber nur 1 Tag andauerndes Fieber ausgezeichnet waren. Die meisten dieser Fälle kamen bereits entfiebert zur Beobachtung. Nur 10 Fälle wurden mit Fieber und Allgemeinerscheinungen eingeliefert, und bei allen diesen ergab die modifizierte Galleanreicherungsmethode, und nur diese, die Anwesenheit von Bac. paratyphi B im Blute. Von klinischer Seite wird über diese Massenerkrankung eingehend berichtet werden.

Es konnte demnach bei 37 von 40 Fällen, bei denen klinischerseits der Verdacht einer typhösen Erkrankung ausgesprochen wurde, und bei denen mit der bisherigen Methode die Krankheitserreger im Blute nicht nachgewiesen werden konnten, in den gleichzeitig entnommenen Blutmengen mittels des modifizierten Verfahrens der ätiologische Nachweis erbracht werden.

Es erhob sich nun die Frage nach der Ursache des Gelingens der Blutkultur bei der angeführten Methode.

Es erschien uns möglich, daß die durch den Krieg geänderten Verhältnisse für das Mißlingen des Bazillennachweises im Blute zur Verantwortung gezogen werden müssen, ein Gedanke, der sich bei dem zeitlichen Zusammenfallen beider Umstände allen Beobachtern aufdrängte. Unsere Untersuchungen mußten sich daher in dieser Richtung bewegen.

Zuerst wurde die Möglichkeit ins Auge gefaßt, daß die verwendete Galle vielleicht durch die geänderten Futterverhältnisse der Rinder ihre spezifische Anreicherungskraft eingebüßt hätte. Doch diesbezügliche Versuche ergaben dafür keinen Anhaltspunkt. Es wurden Gallen von verschiedener Beschaffenheit (dünn, dickflüssig, schleimig), von verschiedener Farbe (gelb, grün, braun) verwendet. Das spezifische Gewicht derselben wurde teils durch Eindampfen, teils durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung von 1008 bis 1040 variiert. Alle diese Gallen zeigten, mit Typhusbazillen beschickt, nach 24-stündiger Bebrütung und Aussaat auf Drigalski eine deutliche Anreicherungskraft.

Die Möglichkeit, in der Galle die Ursache zu suchen, mußte demnach ausgeschlossen werden.

In zweiter Linie war es naheliegend, die für die Epidemiologie des Krieges einschneidende Maßnahme, nämlich die stattgehabten Schutzimpfungen, als Erklärung heranzuziehen. Und da war es in erster Linie die durch die Impfungen bedingte Vermehrung der Abwehrkörper im Serum, die in Betracht gezogen werden mußte.

Stern und Korte hatten zuerst die Bildung von spezifischen Bakteriolysinen im Blute Typhuskranker zur Diagnose des Typhus verwendet. Wenn sich nun nach stattgehabter Schutzimpfung ebenso Abwehrkörper im Serum nachweisen ließen, die das Wachstum der Bakterien zu hindern vermögen, so können wir wohl die Schutzimpfung für die im Kriege so zahlreichen negativen Resultate der Blutuntersuchung verantwortlich machen. Wie Kaup eingehend berichtet (München. med. Wochenschr. 1916. No. 37) gelang es tatsächlich, bei fast allen Geimpften, wenn nicht zu lange Zeit seit der Impfung verflossen war, für Typhusbazillen spezifische Bakteriolysine nachzuweisen, und zwar noch in solchen Verdünnungen, welche bei der Galleanreicherungsmethode in Betracht kommen. Auch unsere diesbezüglich angestellten Versuche bestätigten diese Befunde.

Wir haben nun, durch die auffallend günstigen Resultate unserer Methode auch bei Paratyphus bewogen, Versuche über die bakteriolytische Wirkung von Serum gegen Typhus Geimpfter gegenüber Paratyphusbazillen angestellt, und auch gegen Paratyphusbazillen eine deutliche Zunahme der bakteriziden Stoffe gegenüber der Norm feststellen können, eine Tatsache, die darauf zurückzuführen ist, daß sich seit April 1915 in dem verwendeten Impfstoffe auch Paratyphusbazillen befinden.

Wir waren nun wohl geneigt, in der durch die Impfungen bedingten Vermehrung der bakteriziden Stoffe die Ursache für das häufige Versagen der üblichen Gallenanreicherungsmethode, aber auch zugleich die Erklärung für das Gelingen derselben nach unserer Modifikation, bei der ja eine gründliche Entfernung des Serums die Hauptrolle spielt, zu suchen.

Bei weiteren Versuchen, welche den Verhältnissen bei der Kultur annähernd entsprachen, nämlich bei Zusatz von Galle zum Bakterizidieversuche in vitro, zeigte sich jedoch, daß durch die Galle die bakteriolytische Wirkung des Serums vollständig aufgehoben wurde. Patientenserum als auch Immunserum, welches reaktiviert wurde, büßt bei Zusatz von Galle vollständig seine bakterizide Kraft ein.

Ich möchte nun trotzdem allein die Wirkung des Serums für die Hemmung in der Gallekultur zur Verantwortung ziehen, und zwar nach folgender Ueberlegung:

Wird Blut in ein Galleröhrchen einfließen gelassen, so gerinnt dasselbe in kurzer Zeit, und das im Blutkuchen eingeschlossene Serum verhindert eine Vermehrung der ebenfalls darin befindlichen Keime, und es kann die antibakterizide Kraft der Galle nicht zur Geltung kommen. Wird jedoch das Blut nach seiner Gerinnung weitgehend zerkleinert und gewaschen, so tritt die anreichernde Wirkung der Galle in Wirksamkeit, und es ist die Möglichkeit für das Wachstum der Bakterien gegeben.

Es könnte eingewendet werden, daß es vielleicht rein mechanische Momente, wie das Zerkleinern des Blutkuchens, sind, die das Wachstum der Bakterien ermöglichen; doch dagegen sprechen unsere diesbezüglich angestellten Versuche. Wir haben nämlich bei keinem der nach der gewöhnlichen Anreicherung negativen Fälle durch ausgiebiges Zerkleinern des Blutkuchens und Einbringen in Galle ohne vorheriges Waschen ein positives Resultat erzielt.

Demnach bleibt für uns die einzige Möglichkeit, doch allein die durch die Impfungen gesteigerte Bakterizidie des Serums als Ursache für den häufig negativen Ausfall der Blutgallekultur anzusehen und den Erfolg unserer Methode auf die gründliche Entfernung des hemmenden Serums zurückzuführen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß mit der angeführten Modifikation weitaus bessere Resultate erzielt werden, als mit der üblichen Galleanreicherung, und daß der Prozentsatz der positiven Befunde nicht nur den im Frieden gefundenen gleichkommt, sondern ihn noch übertrifft. (G. C.)

Nachdruck verboten.

Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe im Darm von gesunden Spankälbern und bei deren Darminfektionen.

Vergleichende Untersuchungen.

[Aus dem Serumlaboratorium der Kgl. Tierärztlichen und Landwirtschaftlichen Hochschule zu Kopenhagen (Direktor: Prof. Dr. C. O. Jensen).]

Von Tierarzt **M. Christiansen.**

Bei keinem anderen Haustier, ja wohl kaum bei irgendeiner anderen Tierart spielen die zur Typhus-Coli-Gruppe gehörenden Bakterien annäherungsweise eine so große Rolle wie beim Rind, und zwar nehmen namentlich bei den ganz jungen Kälbern die von den genannten Bakterien herrührenden Krankheiten einen alles beherrschenden Platz ein. Für die rationelle Rinderzucht sind diese Leiden daher von sehr großer wirtschaftlicher Bedeutung, und einige davon sind auch in hygienischer Beziehung von sehr großem Interesse wegen der Gefahr, welche sie für den Menschen darbieten (Fleischvergiftungen).

Von den drei großen Untergruppen, in welche die zur Typhus-Coli-Gruppe gehörenden Bakterien allgemein eingeteilt werden, nämlich Typhus-, Paratyphus- (Schweinepest-) und Coli-Gruppe, sind nur die beiden letzteren unter den für Kälber pathogenen Bakterien vertreten. Echte Typhusbazillen wurden nur ein vereinzeltes Mal beim Rinde nachgewiesen — in einem Milzabszeß bei einer Kuh (Levy u. Jacobsthal) —, und man kann daher hier, praktisch betrachtet, von ihnen absehen. Die zur Paratyphus- und Coli-Gruppe gehörenden Formen kommen aber überaus häufig als Krankheitsursache bei Kälbern vor.

Von den zur Paratyphusgruppe gehörenden Bakterien finden wir bei Kälbern 2 voneinander wohl gesonderte pathogene Formen. Am häufigsten treffen wir die von C. O. Jensen mit dem Namen Paracoli bezeichnete Form, die tatsächlich in so gut wie allen Beziehungen mit dem bei Fleischvergiftungen vorkommenden und für den Menschen sehr pathogenen Gärtner-Bacillus (Bacillus enteritidis Gärtner) übereinstimmt. Die andere — weniger häufiger vorkommende — für Kälber pathogene Form stimmt in jeder Beziehung überein mit den Paratyphus-B-Bazillen, namentlich den bei Fleischvergiftungen vorkommenden. Sowohl die Paracoli- als die Paratyphus-B-Bazillen können bei ganz jungen Kälbern vorkommen; am häufigsten trifft man sie jedoch bei etwas älteren, von 14 Tagen oder 3 Wochen bis einige Monate alten Kälbern. — Im Gegensatz hierzu treffen wir die sehr häufig vorkommenden Coli-Infektionen fast ausschließlich bei ganz jungen Kälbern (1—5 Tage alt), während wir diese Bakterien nur ganz ausnahmsweise als Krankheitsursache bei älteren Kälbern antreffen.

Die von den zur Paratyphus- und Coli-Gruppe gehörenden Bakterien bei jungen Kälbern hervorgerufenen Leiden sind einander im übrigen in klinischer Beziehung ziemlich gleich, so daß sie sich nicht durch die klinische Untersuchung voneinander unterscheiden lassen. Sie verlaufen in der Regel akut bei Symptomen von Enteritis und bei starkem Allgemeinleiden und Schwächung, und in den meisten Fällen findet dann ein Uebergang der pathogenen Bakterien vom Darm in die Blutbahnen statt. Das augenfälligste klinische Symptom ist ein kräftiger Durchfall, und von alters her sind alle Durchfallformen bei Spankälbern unter die klinische Bezeichnung Kälberruhr zusammengefaßt, indem man sie als eine Einheit auffaßte. Erst durch das Studium der Aetiologie der Kälberruhr gelangte man zur Klarheit darüber, daß es sich trotz des recht übereinstimmenden klinischen Verlaufes und der teilweise auch gleichartigen pathologisch-anatomischen Veränderungen dennoch um keine Einheit, sondern um eine Reihe ätiologisch verschiedener Krankheiten handele. So können wir, außer den bereits genannten, zur Paratyphus- und Coli-Gruppe gehörenden Bakterien, in einigen Fällen von Kälberruhr zu anderen Bakteriengruppen (Diplokokken, Proteus-Bazillen, Pasteurella) gehörende Formen als Krankheitsursache antreffen; aber die erstgenannten Bakterien haben doch wegen ihres sehr häufigen Vorkommens bei weitem die größte Bedeutung, und wo speziell von den bei Spankälbern auftretenden Infektionen die Rede ist, haben wir es vornehmlich mit den Coli-Bazillen zu tun; mit diesen werden wir uns denn auch im folgenden im wesentlichen zu beschäftigen haben.

Die in praktischer Beziehung überaus wichtige Frage von der Genesis dieser Infektionen ist, namentlich was die Coli-Infektionen betrifft, zu wiederholten Malen und von verschiedenen Forschern untersucht worden. und verschiedene Ansichten haben sich darüber geltend gemacht. Im Jahre 1892 wies C. O. Jensen Coli-Bazillen als Ursache von Kälberruhr nach, und bereits bei diesen seinen ersten Untersuchungen über dieses Leiden behandelte er den Ursprung der pathogenen Coli-Bazillen und deren Verhältnis zu den im Darme gesunder Spankälber normaliter vorkommenden Coli-Bazillen. Diese Untersuchungen ergaben, daß die pathogenen und die bei gesunden Kälbern im Darme vorkommenden Coli-Bazillen sich in morphologischer und kultureller Beziehung identisch verhalten. Nur in betreff ihrer Pathogenität bei Verfütterung und Verimpfung an gesunde Kälber verhielten sie sich in verschiedener Weise; während die Kälberruhrbazillen sich als stark pathogen herausstellten und bei Verfütterung eine schnell verlaufende und tödliche Krankheit hervorriefen, gelang es auch bei Verfütterung großer Mengen der normaliter vorkommenden Coli-Bazillen, kein Leiden oder höchstens eine vorübergehende, leichte Diarrhöe hervorzurufen. Es war also sicher, daß in betreff der pathogenen Eigenschaften Kälbern gegenüber zwischen den von einer Kälberdiarrhöe und den von gesunden Kälbern herstammenden Coli-Bazillen ein bedeutender Unterschied bestand, trotzdem sie in vielen anderen Beziehungen ganz übereinstimmten. Die Frage von dem Verhältnis der pathogenen Formen zu den normaliter vorkommenden Bakterien war damit angeregt, und C. O. Jensen präzisierte sie genauer, indem er zwei Möglichkeiten aufstellte: entweder sind die Kälberruhrbakterien, trotz der vielen Gleichheitspunkte, nicht mit den gewöhnlichen Darmbakterien identisch, oder sie sind als pathogene Varietäten derselben zu betrachten und ihnen insofern identisch, als nur die pathogenen Eigenschaften abgeändert worden sind, während die anderen unverändert geblieben sind.

Zu der Zeit war indessen eine Reihe der sehr wichtigen Identifizierungs- und Unterscheidungsmittel, über welche die Bakteriologie heute verfügt, noch unbekannt; dies gilt z. B. von der Untersuchung des Vermögens der Bakterien, verschiedene Stoffe (Zuckerarten und damit verwandte Stoffe) zu vergären, sowie von der ganzen Reihe wichtigerer Reaktionen, welche wir durch die Serologie gewonnen haben (Agglutination, Komplementbindung, Immunisierung).

Demungeachtet zeitigte C. O. Jensens erster Versuch ein sehr interessantes und für die behandelte Frage sehr wichtiges Ergebnis. C. O. Jensen fand nämlich, daß man, wenn man neugeborenen und ganz gesunden Kälbern eine geringe Menge irgendeines reizenden Stoffes, wie gewisse Desinfektionsmittel (Kreolin, Jodtrichlorid, Pyoktanin, Formalin), oder nur gekochte Milch eingab, imstande war, eine der typischen Kälberruhr entsprechende Krankheit hervorzurufen, und — was von besonderer Wichtigkeit war — es fand während der Krankheit ein Uebergang von Coli-Bazillen aus dem Darm in die Blutbahnen statt, so daß, ganz wie bei der spontanen Coli-Bazillose, eine Enteritis mit darauf folgender, von Coli-Bazillen hervorgerufener Septikämie vorlag. Da in den genannten Versuchen eine spontane Infektion durch virulente Coli-Bazillen ausgeschlossen war, konnten die ins Blut eingedrungenen Coli-Bazillen nur von den im Darm vorhandenen, normaliter vorkommenden Coli-Bazillen herstammen. C. O. Jensen erklärte dieses sehr interessante Verhältnis daraus, daß das Widerstandsvermögen des jungen Kalbes, wegen der reizenden und entzündungserregenden Wirkung der genannten Stoffe auf die Darmschleimhaut, herabgesetzt wird; dadurch wird es den im Darm vorkommenden — ursprünglich nicht pathogenen — Coli-Bazillen ermöglicht, in die geschwächte Darmschleimhaut einzudringen und in den Organismus überzugehen, indem sie unter den neuen Verhältnissen ausgeprägtere pathogene Eigenschaften annehmen können. Spätere von C. O. Jensen angestellte Untersuchungen zeigten auch, daß Coli-Bazillen, welche pathogene Eigenschaften angenommen hatten, diese auch behielten, indem Kulturen, welche aus Organen von Kälbern reinkultiviert worden waren, die nach Fütterung mit den genannten Reizstoffen gestorben waren, sich bei Verfütterung an gesunde Kälber als pathogen herausstellten, auch wenn diese Kälber durch keine Eingabe von besonderen Stoffen künstlich geschwächt wurden.

Die Resultate dieser Versuche scheinen uns ja in hohem Grade einen Fingerzeig in der Richtung des Ursprunges der pathogenen Coli-Formen geben zu können, indem sie zeigen, daß pathogene Formen unter gewissen Umständen aus den normaliter vorkommenden Darmbakterien dadurch werden entstehen können, daß diese pathogene Eigenschaften annehmen und danach imstande sind, diese Eigenschaften zu bewahren; und wenn man imstande ist, auf experimentellem Wege Virulenzabänderungen hervorzurufen, ist es auch höchst wahrscheinlich, daß solche unter natürlichen Verhältnissen entstehen können. Als Momente, die unter natürlichen Verhältnissen imstande sind, das Entstehen der pathogenen Eigenschaften hervorzurufen oder zu begünstigen, nimmt C. O. Jensen gewisse Dinge an, welche auf die neugeborenen Kälber abschwächend wirken können (Erkältung, ungeeignete Ernährung usw.).

Dieser Ansicht von der Genesis der pathogenen Coli-Bazillen ist Poels entgegengetreten, der C. O. Jensens Versuche mit Eingabe von Reizstoffen wiederholt hat. Poels wandte Kreolin, Jodtrichlorid und Krotonöl an, konnte aber dadurch in keinem Falle ein der typischen Coli-Bazillose entsprechendes Leiden hervorrufen. Zwar starben die Kälber an Darmentzündung infolge von Vergiftung, aber die Organe der gestorbenen Tiere waren stets steril — und es lag keine Einwanderung von Coli-Bazillen in den Organismus vor. Auf Grund dieser an Anzahl im übrigen recht geringfügigen Versuche stellt Poels in Abrede, daß die pathogenen Coli-Bazillen als einfache Varietäten der normaliter vorkommenden Darm-Coli-Bazillen aufgefaßt werden können, während er sie als einen besonders virulenten Coli-Bacillus auffaßt, der sich nur durch Infektion mit infiziertem Material übertragen läßt.

Eine eingehende Untersuchung der biologischen Verhältnisse der pathogenen und normaliter vorkommenden Coli-Bazillen und Vergleiche auf Grund solcher Untersuchungen hat Poels nicht angestellt. Doch gibt er an, daß man mittels des Agglutinationsverfahrens die beiden Formen voneinander unterscheiden kann, indem Serum von Kälbern, die durch pathogene Coli-Bazillen immunisiert worden sind, stark agglutinierend auf sie wirkt, während die normalen Darmbewohner unbeeinflußt bleiben.

Zu einem etwas anderen Resultat kam Joest, der einzelne Kälberruhr-Coli-Stämme und Coli-Stämme aus dem Darm von gesunden Kälbern untersuchte. Durch recht eingehende Untersuchungen kam Joest zu dem Resultat, daß sowohl in morphologischer, kultureller und biochemischer Beziehung, wie auch in betreff der pathogenen Eigenschaften (kleineren Versuchstieren gegenüber), eine vollkommene Uebereinstimmung zwischen allen von ihm untersuchten Kulturen bestehe. Von Joest angestellte Agglutinationsversuche mit den verschiedenen Stämmen überzeugten ihn davon, daß das Agglutinationsverfahren sich nicht als Unterscheidungsmittel für die pathogenen und die normaliter vorkommenden Coli-Bazillen eigene, indem Coli-Seren, die mit pathogenen Stämmen hergestellt waren, und die homologe Stämme recht stark (1:500—1:1000) agglutinierten, andere pathogene Stämme viel schwächer (1:10—1:30) beeinflußten; im übrigen aber agglutinierten die aus gesunden Kälbern isolierten Coli-Stämme ebenso stark (1:20). Was die Pathogenese des Leidens betrifft, so vertritt Joest durchaus den von C. O. Jensen eingenommenen Standpunkt, indem er die Kälberruhr-Coli-Formen nicht als eine besondere Art, sondern nur als eine für Kälber virulentere Varietät des Bacterium coli commune betrachtet.

Später von C. O. Jensen angestellte, sehr umfassende Untersuchungen, namentlich über das Vermögen der pathogenen Coli-Formen, verschiedene Zuckerarten und damit verwandte Stoffe zu vergären, zeigten nun, daß wir es bei der Coli-Bazillose bei Kälbern nicht mit einer bestimmten Coli-Form zu tun haben, sondern daß dieses Leiden durch eine Reihe verschiedener Coli-Formen verursacht werden kann, die dadurch voneinander abweichen, daß sie imstande sind, verschiedene von den genannten Stoffen zu vergären. Ferner fand C. O. Jensen, daß diese Coli-Stämme sich auch in agglutinatorischer Beziehung verschieden verhalten, indem ein monovalentes Serum, das einige Stämme stark agglutinierte, andere Stämme in viel geringerem Grade oder gar nicht beeinflussen konnte; in der Weise konnten auch die Immunitätsverhältnisse der verschiedenen Stämme verschieden sein: ein gegen Infektion durch einige Stämme schützendes Serum ergab sich als wenig wirksam oder unwirksam anderen gegenüber. Daraus ging hervor, daß die für Kälber pathogenen Coli-Bazillen als eine ganze Reihe verschiedener Varietäten aufzufassen sind — ein Verhältnis, das C. O. Jensen auch gegen die von Poels ausgesprochene Ansicht anführt, das Leiden solle von einer bestimmten, virulenten Art von Coli-Bazillen herrühren, die ohne Verbindung sei mit den normalen Darmbewohnern.

Schließlich sei noch angeführt, daß auch Titze und Weichel die Frage vom Ursprung der für Kälber pathogenen Coli-Bazillen behandelt haben. Namentlich von epidemiologischen Betrachtungen aus stellen sich diese beiden Forscher abweisend gegen den Gedanken, daß zwischen den pathogenen und den normaliter vorkommenden Coli-Bazillen eine nähere Verbindung vorliege. Speziell führen sie an, daß die Coli-Bazillose in einigen Beständen auftreten kann, während sie in anderen ganz unbekannt sein kann, trotzdem die verschiedenen Bestände unter gleichen Verhältnissen leben. Dies soll vermeintlich als Beweis dafür gelten, daß die Verhältnisse, unter denen die Kälber leben, für das Entstehen des Leidens oder vielmehr für das Entstehen der virulenten Bazillen ohne Bedeutung seien: aber Titze und Weichel scheinen hier ganz das oben erwähnte Verhältnis zu übersehen, daß die Coli-Bazillen die gesteigerte Virulenz für Kälber bewahren, wenn sie sie erst einmal angenommen haben, und daß solche virulente Bazillen, wenn sie irgendwie in einen Bestand eingeführt werden, selbstverständlich neugeborene Kälber werden infizieren können, auch ohne daß dazu besondere Momente (Diätfehler u. dgl.) erforderlich wären; solche sind aber wahrscheinlich erforderlich, damit nichtpathogene Coli-Bazillen eine Virulenzsteigerung erhalten können. Wenn ein Bestand von Coli-Bazillose angegriffen ist, braucht das also keineswegs zu bedeuten, daß die Virulenzsteigerung innerhalb dieses Bestandes stattgefunden hat; die virulenten Bazillen können ebenso gut von außen eingeführt worden sein. Der Verweis auf die epidemiologischen Verhältnisse sagt also nichts in betreff der Frage von der Identität der normaliter vorkommenden Coli-Bazillen.

Es liegt also in der Literatur nichts vor, das die von C. O. Jensen aufgestellte Vermutung von dem genauen Zusammenhang zwischen den pathogenen Coli-Bazillen und den normaliter vorkommenden Coli-Formen entkräften könnte; ein eingehender Vergleich zwischen den Eigenschaften der beiden Formen ist aber nicht angestellt worden. Wie oben berührt, sind die pathogenen Coli-Formen in mehreren Beziehungen recht genau untersucht worden; dagegen sind die bei gesunden Kälbern normaliter vorkommenden Coli-Bazillen nur wenig untersucht worden. Wenn wir nun im folgenden näher auf den Vergleich zwischen den beiden Formen eingehen sollen, wird es somit notwendig sein, letztere einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen; eines direkten Vergleichs halber ist jedoch auch eine bedeutende Anzahl von pathogenen, aus Coli-Bazillose bei Kälbern isolierten Stämmen untersucht worden. Wir betrachten nun erst diese und gehen dann zur Besprechung der bei gesunden Kälbern vorkommenden Coli-Bazillen sowie der übrigen zur Typhusgruppe gehörenden Bakterien bei Kälbern über.

I. Die für Kälber pathogenen Coli-Bazillen.

Wie bereits erwähnt, treffen wir nur bei ganz jungen (wenige Tage alten) Kälbern Coli-Bazillen als Krankheitsursache an. Diese Infektionen können im übrigen von verschiedener Natur sein; aber in bei weitem den meisten Fällen handelt es sich um eine heftige, akut verlaufende Darmentzündung, während welcher die pathogenen Coli-Bazillen in die Blutbahnen eindringen und eine deutlich ausgesprochene Septikämie ergeben. In nicht wenigen Fällen haben wir es jedoch mit der Darmentzündung allein zu tun, indem die betreffenden Bakterien nicht in die Blutbahnen eindringen; in der Regel treffen wir sie jedoch in den zum Darm gehörenden Lymphdrüsen an. Wie wir später sehen werden, handelt es sich in einigen von diesen Fällen um eine besondere Form von Coli-Bazillen, die in mehreren Beziehungen von dem gewöhnlichen Coli-Typus abweichen und zunächst als eine zur sogenannten Aërogenes-Gruppe gehörende Form aufzufassen sind. In selteneren Fällen können wir auch Coli-Bazillen als Ursache der Nabelentzündung bei jungen Kälbern antreffen. Es besteht jedoch kein ätiologischer Unterschied zwischen den Nabelinfektionen und den Darminfektionen, und die Abweichungen im Krankheitsbild und dem pathologisch-anatomischen Bild beruhen ausschließlich auf der verschiedenen Infektionsweise; die beiden Infektionen werden übrigens oft kombiniert vorkommen, indem die Coli-Bazillen, wenn sie auch primär in den Organismus durch den Nabel eindringen, sekundär eine Darmentzündung bewirken können. Von größerer Bedeutung ist es also nicht, zwischen den Enteritiden und den Nabelinfektionen zu unterscheiden.

Das den nachfolgenden Untersuchungen über die für Kälber pathogenen Coli-Bazillen zugrunde liegende Material umfaßt im ganzen 273 Kulturen, die aus ebenso vielen, an der Coli-Bazillose gestorbenen

Kälbern isoliert wurden. Bei der Auswahl der Kulturen ist in besonderem Grade berücksichtigt worden, daß die untersuchten Bakterien tatsächlich pathogene Bakterien sind. Die Kulturen stammen daher von Fällen, die charakteristische pathologisch-anatomische Veränderungen, namentlich septikämischer Natur, darboten, und die Kulturen sind alle aus den Organen (in den allermeisten Fällen aus der Milz) isoliert worden, so daß man mit Sicherheit davon ausgehen kann, daß es sich um pathogene Formen handelt. Dieser Vorbehalt ist notwendig, da es ja keineswegs gegeben ist, daß jeder Coli-Bacillus, den man aus den Organen eines selbstgestorbenen Kalbes isolieren kann, pathogener Form ist; denn es kann eine postmortelle Einwanderung der normaliter im Darm vorkommenden Coli-Bazillen stattfinden. Allerdings scheint die Gefahr einer postmortellen Einwanderung von Coli-Bazillen aus dem Darm speziell bei jungen Kälbern nur sehr gering zu sein; die Möglichkeit läßt sich jedoch nicht ausschließen. Wenn es sich daher, wie hier, darum handelt, sicherlich pathogener Formen habhaft zu werden, die noch dazu zum Vergleich mit normaliter vorkommenden Bakterien angewendet werden sollen, so wird es am richtigsten sein, von den Fällen abzusehen, die keine deutlichen pathologischen Veränderungen aufweisen. Aus dem Grunde wurden denn auch nicht die Formen herangezogen, die man in den obenerwähnten Fällen vorfindet, wo keine Bakteriämie, sondern nur eine Einwanderung von Coli-Bazillen in die Lymphdrüsen des Darmes vorliegt.

Die Isolierung der Kulturen geschah im übrigen in der Weise, daß aus den Organen der toten Kälber (meistens der Milz) Verteilungen auf Agar angelegt wurden. Eine Anzahl der entstandenen Kolonien (in der Regel 3—6) wurde danach untersucht, namentlich in betreff ihres Gärungsvermögens einer Reihe von Zuckerarten gegenüber (siehe unten). Es zeigte sich dadurch, daß die aus einem einzelnen Kalb isolierten Kolonien immer vollkommen identisch waren; nur in einer ganz geringen Anzahl von Fällen wurden bei demselben Kalb verschiedene Coli-Typen nachgewiesen. Von Kulturen aus solchen Fällen sind in dem Folgenden vergleichende Untersuchungen nicht mitherangezogen worden, da es sich nicht ohne weiteres entscheiden läßt, ob die verschiedenen Typen pathogene Formen sind, oder ob neben den pathogenen Formen eine sekundäre Einwanderung von Darmbakterien stattgefunden hat.

Die untersuchten 273 Kulturen wurden also alle aus den inneren Organen von Kälbern isoliert, welche an der Coli-Bazillose gestorben waren, und die bei der Obduktion ausgeprägte septikämische pathologisch-anatomische Veränderungen aufwiesen, und in jedem einzelnen Falle wurde nur das Vorhandensein eines Coli-Typus nachgewiesen; man kann somit mit Sicherheit davon ausgehen, daß die betreffenden Kulturen tatsächlich für Kälber pathogene Formen vertreten. Von den 273 Kälbern wurden tatsächlich ca. 1100 Kulturen untersucht, indem, wie erwähnt, von jedem Kalb eine Anzahl Kulturen untersucht wurde, namentlich in betreff des Gärungsvermögens; zur weiteren Untersuchung wurde dagegen nur ein Stamm von jedem Kalb herangezogen.

Morphologie: Die morphologische Untersuchung fand statt an ganz frischen, 10—20 Stunden alten Bouillonkulturen und hängenden Tropfen. Sämtliche Kulturen ergaben sich dadurch als einander ganz gleich, was Aussehen und Form der Bakterien betrifft. Innerhalb der einzelnen Kultur können die Bakterien oft etwas variieren, namentlich

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

an Größe; aber dieses Verhältnis war dasselbe bei allen untersuchten Kulturen. Was dagegen die Beweglichkeit angeht, so können sich die verschiedenen Kulturen höchst verschieden verhalten. So wiesen einige der Kulturen eine sehr ausgeprägte Beweglichkeit auf, indem so gut wie alle beobachteten Bakterien dieser Kulturen stark beweglich waren. Andere Kulturen dagegen zeigten sich so gut wie unbeweglich, indem es nicht gelang, Keime mit ausgeprägter Eigenbewegung aufzufinden; die Beweglichkeit, die in diesen Kulturen beobachtet wurde, ließ sich somit nicht von der Molekularbewegung unterscheiden. Dazu ist zu bemerken, daß keine speziellen Untersuchungen angestellt wurden, um das Vorhandensein von Geißeln nachzuweisen, die ja, wo es sich um solche unbewegliche oder schwach bewegliche Formen handelt, das einzige zuverlässige Mittel zur Unterscheidung der Frage von Beweglichkeit oder Unbeweglicheit darbieten. Bei einzelnen Kulturen wiesen die allermeisten der beobachteten Keime keine Beweglichkeit auf, während ganz vereinzelte sehr stark beweglich waren; hier finden wir also innerhalb derselben Kultur anscheinend einen großen Unterschied der Beweglichkeit der einzelnen Bakterien. Die unbeweglichen oder schwach beweglichen Formen scheinen am häufigsten vorzukommen. Von den 273 untersuchten Kulturen waren 157 von diesem Typus; 97 Kulturen waren ausgeprägt beweglich, während in 19 Kulturen nur ganz vereinzelte Keime mit deutlicher Eigenbewegung beobachtet wurden, wogegen die Mehrzahl keine solche aufzuweisen hatte. Untersuchungen über die Beweglichkeit von Coli-Bazillen, namentlich vom Menschen herrührenden, sind früher angestellt worden, und es geht daraus hervor, daß auch bei diesen eine ähnliche Variation dieses Verhältnisses vorliegt. Von 300 Coli-Stämmen, die Stöcklin aus den Faeces gesunder, erwachsener Personen isolierte, waren 116 beweglich, 184 aber unbeweglich, also ein ähnliches Verhältnis, wie wir es für die für Kälber pathogenen Coli-Bazillen fanden. Als Arts- und Varietätskennzeichen läßt sich die verschiedene Beweglichkeit kaum verwerten, indem eine auf dieses Verhältnis begründete Einteilung, wie wir später sehen werden, anderen Einteilungsverfahren gegenüber nicht wird aufrechterhalten werden können.

Kulturelle Verhältnisse: In ihrem Wachstum auf den verschiedenen gewöhnlichen Nährböden bieten die untersuchten Kulturen keine Verschiedenheiten dar, indem sie alle wachsen, wie die Coli-Bazillen es im allgemeinen zu tun pflegen. Eine besonders eingehende Untersuchung darüber ist jedoch nicht angestellt worden, doch ist das Wachstum auf Gelatine näher untersucht worden. Der Grund ist, daß mehrere recht nahestehende, namentlich zur Paratyphusgruppe gehörende Bakterien auf diesem Nährboden in besonders charakteristischer Weise wachsen, wie auch die den Coli-Bazillen sehr nahestehenden, sogenannten Aërogenes-Bazillen in sehr charakteristischer und von den gewöhnlich vorkommenden Coli-Formen stark abweichender Weise auf Gelatine wachsen; es war somit nicht unwahrscheinlich, daß man bei einer Untersuchung einer größeren Anzahl von Coli-Kulturen in dieser Beziehung auf Verschiedenheiten würde treffen können. Sämtliche Kulturen wurden daher an der Oberfläche einer 20-proz. Gelatine gewöhnlicher Zusammensetzung (2 Proz. Cibils Fleischextrakt; 1 Proz. Wittes Pepton) ausgestrichen, worauf sie ein paar Monate bei gewöhnlicher Zimmertemperatur stehen blieben. Die allermeisten der Stämme wuchsen danach in der Hauptsache in gleicher Weise, indem sie einen recht zarten, einigermaßen trockenen, deutlich irisierenden Belag an der Gelatine bildeten; einige von den Kulturen breiteten sich vom Ausstrich aus kräftig aus, so daß die Beläge fast die ganze Oberfläche bedeckten; andere hielten sich fast nur an den Ausstrich und wiesen ein kompakteres, an der Oberfläche schwach körniges Wachstum auf; dazwischen fanden sich alle Uebergänge; in der Hauptsache waren sie jedoch gleich, namentlich in betreff der trockenen Beschaffenheit der Kultur. Nur 9 der untersuchten Kulturen waren wesensverschieden von den übrigen in betreff der Beschaffenheit der Gelatinekulturen, indem sie eine üppige, fettig-feuchte, porzellanweiße Kulturmasse bildeten, die der bei Aërogenes-Bazillen vorkommenden sehr ähnlich ist. In anderen Beziehungen verhielten diese Kulturen sich jedoch nicht gleich. So war eine von ihnen stark beweglich, während die übrigen schwach beweglich oder unbeweglich waren; letztere stimmen also insofern mit den Aërogenes-Bazillen überein, von denen ja gewöhnlich angegeben wird, daß sie unbeweglich sind. Es ist eine Frage, ob diese Kulturen auf Grund ihres abweichenden Wachstums auf Gelatine von den übrigen Stämmen zu sondern sind; denn in anderen Beziehungen stimmen sie, wie wir später sehen werden, recht genau mit einigen von den typischen Coli-Kulturen überein. Indessen ist ihr Wachstum auf Gelatine so charakteristisch und so verschieden von dem gewöhnlichen Coli-Typus, daß es wohl am natürlichsten sein wird, sie als etwas für sich und eventuell in die Nähe der Aërogenes-Bazillen zu stellen; im übrigen sind aber die Grenzen zwischen den Coli- und den Aërogenes-Bazillen sehr unbestimmt.

Gärungsvermögen: Durch ihr Vermögen, verschiedene Stoffe, namentlich Zuckerarten und polyvalente Alkohole, zu vergären, sondern sich, wie bekannt, die zur Typhus-Coli-Gruppe gehörenden Bakterien in verschiedene Untergruppen, und dieses Verhältnis ist denn auch in ausgedehntem Grade zur Einteilung dieser Bakteriengruppe benutzt worden. Der erste, welcher dieses Einteilungsverfahren benutzte, ist Th. Smith, der in betreff der Coli-Bazillen dartun konnte, daß sämtliche Formen imstande sind, Dextrose und Laktose unter Gasentwicklung und Säurebildung zu vergären, während sie sich gegenüber Saccharose verschieden verhalten konnten, indem einige Coli-Formen diese Zuckerart zu vergären vermochten, während andere nicht dazu imstande waren. Th. Smith verwertete bei seinen Untersuchungen nur diese 3 Zuckerarten; später wurde die Frage vom Gärungsvermögen der zur Typhus-Coli-Gruppe gehörenden Bakterien und die Frage von der Identifizierung und Unterscheidung der verschiedenen Formen auf Grund dieses Verhältnisses in viel größerem Umfang von C. O. Jensen behandelt, der eine Menge verschiedener, pathogener und normaliter vorkommender Formen, die vom Menschen und verschiedenen Tierarten herrührten, gegenüber einer großen Anzahl verschiedener Stoffe, namentlich Zuckerarten und polyvalenten Alkoholen, untersuchte.

Auch eine Anzahl der für Kälber pathogenen Coli-Stämme wurde von C. O. Jensen untersucht. Es zeigte sich, daß verschiedene Stämme sich gegenüber gewissen der untersuchten Stoffe in recht verschiedener Weise verhalten konnten. Einige Stämme verhielten sich durchaus in derselben Weise in betreff der Stoffe, die sie vergären oder nicht vergären konnten, während andere Stämme eine größere oder geringere Anzahl dieser Stoffe vergärten. Es war auf diese Weise möglich, eine Reihe verschiedener Vergärungstypen dieser für Kälber pathogenen Stämme aufzustellen. Eine recht große Anzahl von Zuckerarten wurde von allen Coli-Stämmen vergärt; es galt dies von den Hexosen: Dextrose, Galaktose, Mannose und Fruktose, den Pentosen: Xylose, Arabinose und Rhamnose, sowie den Disacchariden: Laktose und Maltose. Nur einer geringen Anzahl von Stoffen gegenüber verhielten sich die verschiedenen Coli-Stämme in abweichender Weise, nämlich dem Disaccharide Saccharose, wie bereits von Th. Smith nachgewiesen, ferner der Hexose Sorbose samt den zwei polyvalenten Alkoholen: Dulcit und Adonit gegenüber; außerdem verhielten sie sich gegenüber Raffinose ganz wie gegenüber Saccharose, so daß die Formen, welche die Saccharose nicht spalteten, auch die Raffinose nicht spalteten, während die Saccharose vergärenden Formen auch die Raffinose vergärten. Die untenstehende Tabelle zeigt die von C. O. Jensen als am häufigsten vorkommend bezeichneten Vergärungstypen von Coli-Bazillen, welche von Kälberruhr herrührten. In der Tabelle bezeichnet +: Vergärung bei Gas- und Säureentwicklung, 0: daß keine Spaltung des betreffenden Stoffes stattgefunden hat.

	Dextrose	Laktose	Saccharose	Maltose	Sorbose	Arabinose	Xylose	Rhamnose	Dulcit	Adonit
Typus A I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
„ A II	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0
„ A III	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0
„ B I	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0
„ B II	+	+	0	+	+	+	+	+	0	0
„ B III	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+
„ B IV	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0
„ B V	+	+	0	+	0	+	+	+	0	0

Nach ihrem Verhalten gegenüber Saccharose teilt C. O. Jensen, wie aus dem Schema hervorgeht, die Coli-Bazillen in zwei Hauptgruppen: die saccharosespaltenden, die als „Coli A“ bezeichnet werden, und die nicht-saccharosespaltenden, die als „Coli B“ bezeichnet werden; nach ihrem Verhalten gegenüber Sorbose, Dulcit und Adonit zerfallen, wie man sieht, die beiden Hauptgruppen wieder in mehrere Typen.

Die obenerwähnten 273 Kulturen sind nun alle den genannten Stoffen gegenüber untersucht worden. Das Verfahren war das von C. O. Jensen angegebene. Es wurde von $^1/_4$—1-proz. Lösung der verschiedenen Stoffe in einer aus Cibils Fleischextrakt (2 Proz. Fleischextrakt und 1 Proz. Wittes Pepton) hergestellten Bouillon benutzt. Die Bouillon hatte stets einen bestimmten Titer: ganz schwach sauer gegenüber Phenolphtaleïn. Die Versuche fanden statt in gewöhnlichen Reagenzgläsern, und zur Feststellung der Gasentwicklung bei der etwaigen Vergärung wurde im Reagenzglas ein kleineres Glas in umgekehrter Stellung angebracht, so daß der geschlossene Boden nach oben gekehrt war. Jedes Reagenzglas enthielt ca. 4 ccm Bouillon, und wenn die Gläser nach der Füllung kürzere Zeit hindurch (15 Minuten) gekocht werden, füllt sich das kleine, umgekehrte Glas von selbst ganz mit Bouillon. Wenn dann während des Wachsens der Bakterien eine Gasentwicklung infolge einer Gärung stattfindet, wird sich ein großer Teil des Gases in dem oben geschlossenen, kleinen Glas ansammeln und leicht wahrnehmbar sein. Geschieht die Spaltung des betreffenden Stoffes nicht bei Gasentwicklung, sondern nur bei Säurebildung (siehe unten), so läßt sich dies sehr leicht durch ein Titrieren der Kultur mit $^1/_{10}$ normal Natron entscheiden. In der Regel stellt sich die Vergärung, wenn die betreffenden Bakterien überhaupt imstande sind, die betreffende Zuckerart zu vergären, im Laufe von 12—24 Stunden ein; es kann aber doch auch mitunter länger dauern. Die Kulturen standen daher bei diesen Vergärungsversuchen immer 6—7 Tage im Thermostat. Da die Coli-Bazillen während ihres Wachsens etwas Alkali bilden, wird der Nährboden — wenn er nicht einen Stoff enthält, der sich vergären läßt und dadurch Säurebildung ergibt — sehr schnell alkalisch werden. Da die Bouillon in unseren Vergärungsversuchen, wie oben erwähnt, einen Titer hat, der dem Neutralpunkt des Phenolphtaleïns sehr naheliegt, wird sie in den Gläsern, wo keine Säurebildung infolge der Vergärung stattfindet, deutlich alkalisch für Phenolphtaleïn, wenn die Kultur ausgewachsen ist, und man braucht dann nur ein wenig Phenolphtaleïn zuzusetzen, um sich davon überzeugen zu können, daß keine Säurebildung stattgefunden hat. Das Verfahren bei der Beurteilung der Vergärungskulturen war folgendes: Wurde in den geschlossenen Gläsern Gasentwicklung und in den Kulturen starkes Wachstum vorgefunden, so wurde dieses als ein Ausdruck einer Gärung des zugesetzten Stoffes betrachtet. In den Gläsern, wo keine Gasentwicklung stattgefunden hat, wurde ein wenig Phenolphtaleïn zugesetzt; ist die Reaktion nun deutlich alkalisch, so hat keine Gärung stattgefunden, und wenn bei Zusatz von Phenolphtaleïn keine alkalische Reaktion eintritt, wird die Azidität in gewöhnlicher Weise näher bestimmt.

Das Resultat dieser Untersuchungen war nun, daß **sämtliche Stämme imstande waren, folgende Stoffe zu vergären: Dextrose, Laktose, Maltose, Arabinose, Xylose, Sorbit und Mannit.**

	Saccharose	Sorbose	Rhamnose	Dulcit	Adonit	Anzahl der untersuchten Kulturen
Typus A I	+	+	+	+	0	131
„ A II	+	+	+	0	0	36
„ A III	+	+	+	0	+	2
„ A IV	+	0	+	+	0	30
„ A V	+	0	+	0	0	3
„ A VI	+	0	+	0	+	2
„ B I	0	+	+	+	0	3
„ B II	0	+	+	0	0	6
„ B III	0	+	0	0	0	.
„ B IV	0	0	+	+	0	22
„ B V	0	0	+	0	0	14
„ B VI	0	0	+	0	+	24

Nur folgenden 5 Stoffen gegenüber: Saccharose, Sorbose, Rhamnose, Dulcit und Adonit verhielten sich die untersuchten Stämme verschieden, so daß es möglich war, auf dieser Grundlage eine Anzahl — im ganzen 12 — verschiedene Vergärungstypen aufzustellen, wie dies in der obenstehenden Tabelle veranschaulicht worden ist.

Wie man sieht, richtet sich die Aufstellung der Typen hier zuvörderst nach ihrem Verhalten gegenüber Saccharose (die A- und B-Typen), sodann ist das Verhalten gegenüber Sorbose und Dulcit der weiteren Aufstellung zugrunde gelegt. Man sieht ferner, daß keiner von den Typen alle 5 Stoffe zu vergären vermag — wie auch keiner von ihnen alle 5 Stoffe unberührt läßt. Im übrigen besteht ja eine gewisse Uebereinstimmung zwischen den Typen: Dem Typus A I entspricht der Typus B I, dem Typus A II der Typus B II usw. — nur ist das Verhältnis gegenüber Saccharose verschieden. In derselben Weise stimmt A I überein mit A IV, B I mit B IV, A II mit A V, B II mit B V usw. — nur das Vermögen, Sorbose zu vergären, ist hier verschieden, und der einzige Typus, der außerhalb dieser Regelmäßigkeit zu liegen kommt, ist B III, der sich dadurch auszeichnet, daß er Rhamnose nicht vergärt. Auch in mehreren anderen Beziehungen weicht dieser Typus von den übrigen ab, und er ist eigentlich nur der Uebersicht wegen hier mitherangezogen; es ist somit berechtigt, ihn als etwas für sich zu betrachten; vorläufig werden wir daher von ihm absehen und seine nähere Besprechung bis auf später (Aërogenes-ähnliche Bakterien; siehe Kap. III) aufschieben,

Die Häufigkeit, womit die verschiedenen Coli-Typen vorkommen, ist sehr verschieden, wie aus dem Schema hervorgeht. Der bei weitem am häufigsten vorkommende Typus ist A I, der bei nicht weniger als 131 von 273 untersuchten Kälbern angetroffen worden ist. Die Typen A III, A V, A VI, B I und B II wurden aber nur ein einziges oder ein paar Mal vorgefunden. Da die untersuchten Kälber von einer bedeutenden Anzahl von über das ganze Land verteilten Beständen stammen, kann man gewiß davon ausgehen, daß die angegebene Zahl einigermaßen dem tatsächlichen Verhältnis entspricht — mit anderen Worten, daß die verschiedenen Typen in betreff ihres Vorkommens sehr verschieden sind.

Ueberaus interessant wäre es nun, zu untersuchen, inwiefern die verschiedenen Typen sich auch in anderen Beziehungen als durch ihr Gärungsvermögen voneinander unterscheiden ließen, ob also die biologischen Unterschiede, die dem verschiedenen Verhalten der betreffenden Bakterien gegenüber den genannten chemischen Stoffen zugrunde liegen müssen, sich auch in anderen Beziehungen in einer solchen Weise zu erkennen geben, daß sie sich nachweisen lassen. Es wird bereits aus dem Vorhergehenden erhellen, daß sich in morphologischer und kultureller Beziehung keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Typen nachweisen ließen. Dies gilt z. B. von der Beweglichkeit; innerhalb desselben Vergärungstypus kann man sowohl stark bewegliche als auch anscheinend unbewegliche Stämme antreffen; als Beispiel davon führen wir nur Typus A an. Von den 131 zu diesem Typus gehörenden Kulturen zeigten sich 29 stark beweglich, 99 schwach beweglich oder unbeweglich, und in 3 Kulturen fanden sich einzelne stark bewegliche Keime, während die Hauptmenge ganz unbeweglich schien. Die Beweglichkeit und das Vermögen, bestimmte Stoffe zu vergären, stehen also in keinem Verhältnis zueinander. Dasselbe gilt von dem Wachstum auf Gelatine. Die am verschiedensten vergärenden Stämme können in ganz derselben Weise wachsen, so daß es nicht möglich ist, sie voneinander zu unterscheiden. Wie erwähnt, wiesen 9 von den Stämmen ein abweichendes und recht charakteristisches (Aërogenes-ähnliches) Wachstum auf Gelatine auf. Man könnte nun erwarten, daß diese Stämme ein von den übrigen verschiedenes Gärungsvermögen aufweisen würden, was aber nicht der Fall war. Die betreffenden Stämme vergärten übrigens auch nicht in derselben Weise, indem 3 von ihnen zum Typus A II, 1 zu A V, 4 zu B II und 1 zu B V gehörten. Da sich im ganzen nur 6 Stämme vom Typus B II fanden, sieht man, daß die Mehrzahl dieser Kulturen in der erwähnten abweichenden Weise wuchs; aber als ein bestimmtes Charakteristikum für diesen Typus kann dieses doch nicht bezeichnet werden, indem die beiden anderen Stämme auf Gelatine ganz wie typische Coli-Bazillen wuchsen.

Es kann also als entschieden betrachtet werden, **daß die verschiedenen Vergärungstypen der kälberpathogenen Coli-Bazillen sich nicht durch ihre übrigen kulturellen, noch durch ihre morphologischen Eigenschaften voneinander unterscheiden lassen.**

Zu einem ähnlichen Resultat kommen wir, wenn wir die pathologisch-anatomischen Veränderungen betrachten, die bei Kälbern vorkommen, die an der Coli-Bazillose gestorben sind. Diese Veränderungen können, wenn sie auch der Hauptsache nach derselben Natur sind, dennoch etwas schwanken: bald kann die Darmentzündung, bald können die septikämischen Veränderungen mehr oder minder hervortreten, bald sieht man sehr ausgebreitete, subseröse Blutungen, bald können solche fast ganz fehlen usw. Vergleichen wir nun die verschiedenen Sektionsbefunde mit den Coli-Formen, die wir in den verschiedenen Fällen vorfinden, so zeigt es sich, daß Formen, die ganz verschieden vergären, ganz übereinstimmende pathologische Veränderungen hervorrufen können, während Formen, die sich in betreff ihres Gärungsvermögens als identisch ergeben, recht bedeutende Veränderungen zeigen können. Es besteht, mit anderen Worten, kein Zusammenhang zwischen dem Gärungsvermögen der Bakterien und den von ihnen im Organismus hervorgerufenen Veränderungen.

Wir werden später untersuchen, inwiefern das Gärungsvermögen zu anderen biologischen Reaktionen, namentlich den serologischen Verhältnissen, in irgendwelchem Verhältnis steht; aber eine Frage von fundamentaler Bedeutung für die Berechtigung, die Gärungsproben, so wie wir es getan haben, als Grundlage für eine Typeneinteilung zu verwerten, ist es, inwiefern das Vermögen, die bestimmten Zuckerarten zu spalten, als eine konstante Eigentümlichkeit des einzelnen Stammes bezeichnet werden kann, oder ob das Gärungsvermögen variabel sein kann, so daß ein Stamm spontan oder durch besondere Beeinflussungen abgeändert und sein Vermögen, die verschiedenen Stoffe zu spalten, modifiziert werden kann. Eine Beantwortung dieser Frage ist indessen selbstverständlich eine schwierige Sache; aber die von C. O. Jensen ausgeführten, zahlreichen und lange Zeit hindurch fortgesetzten Versuche, durch verschiedene äußere Beeinflussungen Abänderungen des Gärungsvermögens hervorzurufen, die durchaus zu negativen Resultaten führten, sprechen doch im hohen Grade dafür, daß es sich um konstante Eigentümlichkeiten handelt. In betreff der hier untersuchten Coli-Stämme ließ etwas Aehnliches sich feststellen; viele dieser Stämme wurden nämlich jahrelang (bis 16—17 Jahre) auf künstlichen Nährböden gezüchtet; trotzdem hat kein einziger Stamm sein ursprüngliches Gärungsvermögen geändert. Zudem finden wir, wie oben erwähnt, bei der spontanen Coli-Bazillose von Kälbern so gut wie immer nur einen bestimmten Coli-Typus bei demselben Kalbe. Dies scheint auch auf eine gewisse Konstanz des Gärungsvermögens der betreffenden Bakterien hinzudeuten.

In den späteren Jahren ist indessen eine Reihe von Bakterien, nicht zum wenigsten innerhalb der Typhus-Coli-Gruppe, nachgewiesen worden, bei welchen anscheinend plötzlich und recht unmotiviert eine Aenderung irgendeiner Eigenschaft eintreten kann. Oft gibt sich die erwähnte Veränderung, die von vielen als eine Mutation betrachtet wird, zu erkennen gerade in dem Vermögen der betreffenden Bakterien, irgendeine Zuckerart zu vergären. Wenn es also auch eine Tatsache ist, daß wir bei gewissen Bakterien Aenderungen des Gärungsvermögens auftreten sehen, verringert dies doch keineswegs den Wert der Gärungsproben als wichtiges Klassifizierungsmittel; denn die Mutationen treten in der Regel nur einem ganz vereinzelten Stoff gegenüber auf — verschieden bei den verschiedenen Bakterien — und in vielen Fällen läßt sich gerade die Mutationserscheinung als weiteres Charakteristikum anwenden. So treffen wir diese Erscheinung konstant bei Typhusbazillen gegenüber Rhamnose, bei Paratyphus B-Bazillen gegenüber Raffinose, bei den **Paracoli**-Bazillen gegenüber Arabinose usw.

Betrachten wir nun die obenerwähnten 12 Coli-Typen, so müssen wir also der Hauptsache nach die einzelnen Typen, was das Gärungsvermögen betrifft, als konstant bezeichnen, so daß ein Typus nicht ohne weiteres in den anderen übergehen kann, und wir müssen sie, trotz ihrer im übrigen so außerordentlich großen Aehnlichkeit, doch als verschiedene Formen auffassen. Wie sie entstanden sind, ob sie sich — wahrscheinlich durch Mutation — von einer einzelnen Grundform oder voneinander abgespalten haben, darüber können wir uns keine begründete Vermutung bilden.

Wie erwähnt, spalten die Coli-Bazillen die verschiedenen Stoffe, die sie vergären, unter Gasentwicklung und Säurebildung, und in der Regel geschieht die Spaltung sehr schnell — bereits nach 12—20 Stunden sieht man die beginnende Gärung. Davon kann es jedoch Abweichungen geben. So trifft man nicht selten Stämme, die zwar die meisten Zuckerarten, die sie überhaupt imstande sind, zu verwerten, in typischer Weise (binnen 24 Stunden) vergären, die sich aber einer einzelnen Zuckerart (in der Regel Saccharose oder Sorbose, seltener Dulcit) gegenüber als langsam vergärend ergeben; meist sieht man in diesen Fällen die ersten 2—3 Tage nach der Aussaat kein Zeichen von Vergärung der betreffenden Zuckerart, und erst nach der Zeit tritt dann eine Spaltung ein. In vielen Fällen geschieht dies jedoch nicht bei Gasentwicklung, sondern nur bei Säurebildung, während die Stoffe, die von demselben Stamm binnen 24 Stunden gespalten werden, stets bei lebhafter Gasentwicklung vergärt werden. In anderen Fällen einer so spät eintretenden Vergärung sieht man zwar Gasentwicklung, aber nur in weit geringerem Grade als bei der typischen Vergärung. Das genannte Verhältnis ergibt sich als konstant für den einzelnen Stamm — d. h. daß ein Stamm, der Saccharose oder Sorbose erst 2—3 Tage nach der Aussaat in Bouillon mit der betreffenden Zuckerart spaltet, dieses Verhältnis fortwährend aufweisen wird, wie oft man auch die Probe wiederholen mag. Die in der Weise in einer einzelnen Beziehung etwas abweichenden Stämme sind jedoch zu den typisch vergärenden Formen gerechnet worden.

Einzelne der untersuchten Coli-Stämme — im ganzen 10 — wichen mehr ab. Wie die typischen Coli-Bazillen, vermochten sie zwar, eine eine Reihe der genannten Stoffe zu spalten und zu verwerten; diese Spaltung geschah aber bei allen Stoffen nur bei Säurebildung, nie bei Gasentwicklung, wahrscheinlich weil es den betreffenden Stämmen an den zu einer vollständigen Spaltung notwendigen Enzymen fehlt.

Das Verhältnis war konstant bei diesen Stämmen, und sie waren nicht dazu zu bringen, bei der Zuckerspaltung Gas zu erzeugen. Aehnliche, nicht-gaserzeugende Varietäten, sowohl von Coli wie von anderen, zur Typhus-Coli-Gruppe gehörenden Formen (Paratyphus B, Schweinepest, Paracoli) sind übrigens öfters beschrieben worden.

Die genannten 10 Stämme wichen nur durch die fehlende Gaserzeugung von den typischen Stämmen ab; in allen anderen Beziehungen ergaben sie sich als mit diesen ganz identisch. In betreff der Zuckerarten und polyvalenten Alkohole, die sie zu spalten und zu verwerten vermochten, schließen sie sich verschiedenen der oben aufgestellten Vergärungstypen an, jedoch waren sie alle imstande, Saccharose zu spalten (A-Typen). Mit den gaserzeugenden Stämmen verglichen, verhielten sich 6 von den nichtgaserzeugenden Stämmen wie Typus A I, 1 Stamm schloß sich dem Typus A II und 3 Stämme schlossen sich dem Typus A IV an.

Wenden wir uns nun zu den serologischen Verhältnissen der Coli-Formen, so finden wir auch hier eine sehr hervortretende Variation zwischen den verschiedenen Stämmen, so daß wir nicht imstande sind, auf dieser Grundlage eine Reihe von Varietäten aufzustellen. Im Folgenden werden die Agglutinations- und Komplementbindungsverhältnisse der für Kälber pathogenen Coli-Bazillen näher untersucht werden, während von den Immunitätsverhältnissen erst später die Rede sein wird.

Agglutination.

Es liegen in der Literatur keine eingehenden Untersuchungen über die Agglutinationsverhältnisse der für Kälber pathogenen Coli-Bazillen vor.

In der Einleitung haben wir die von Poels und Joest angestellten Agglutinationsversuche angeführt. Solche wurden ferner ausgeführt von Titze und Weichel, die eine Reihe von Kälberruhrkulturen und einige aus den Faeces verschiedener, gesunder Tiere isolierte Kulturen gegenüber 6 monovalenten Coli-Seren untersuchten. Sie stellten dadurch fest, daß die untersuchten Stämme sich sehr verschieden verhielten, und es gelang ihnen nicht, auf dieser Grundlage eine Einteilung zu bewerkstelligen.

Auch Neumann hat einige Agglutinationsversuche mit Stämmen von Kälberruhr angestellt, wobei er namentlich untersucht hat, ob das Agglutinationsverhältnis sich bei Passagen durch Tiere (Mäuse und Meerschweinchen) ändert, und er kommt zu dem Resultat, daß man, wenn man die Stämme durch die genannten Tiere passieren läßt (intraperitoneale Injektion; Reinkultur aus dem Herzblut), das ursprüngliche Agglutinationsverhältnis der Stämme abändern oder verwischen kann. Hier ist jedoch zu bemerken, daß Neumann, soweit sich ersehen läßt, sich nicht davon überzeugt hat, daß die Kulturen nicht durch die fortgesetzen Tierpassagen verunreinigt worden sind.

Von den obengenannten Untersuchungen gilt, daß sie mit einem ziemlich geringfügigen Material sowohl von Seren als auch von Kulturen ausgeführt wurden.

In der Literatur findet sich ferner eine Menge von Agglutinationsversuchen mit Coli-Bazillen anderen Ursprunges — namentlich vom

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Menschen stammenden, pathogenen und normaliter im Darme vorkommenden Formen. Die allermeisten dieser Untersuchungen stimmen miteinander überein, indem sie zeigen, daß die verschiedenen Coli-Stämme in agglutinatorischer Beziehung oft sehr verschieden sind, so daß ein mit einem bestimmten Coli-Stamm hergestelltes Serum nur eine geringe Anzahl heterologer Stämme beeinflußt, ja nach mehreren Autoren geht es sogar so weit, daß in der Regel nur der homologe Stamm beeinflußt wird, während heterologe Stämme nur viel schwächer oder meist gar nicht beeinflußt werden; die Coli-Agglutinine sollten also in dem Grade spezifisch sein, daß sie sich eigentlich nur gegenüber dem Stamm wirksam zeigen, der zur Herstellung benutzt worden ist. Wenn dieses tatsächlich der Fall ist, so ist es einleuchtend, daß die Agglutinationsreaktion sich nicht innerhalb der Coli-Gruppe als Identifizierungs- oder Einteilungsgrundlage anwenden läßt; denn es würde ja nur dazu führen, daß fast jeder Coli-Stamm eine Untergruppe für sich bilden müßte. Im allgemeinen hat man denn auch der Agglutination jeden Wert als Identifizierungsmittel abgesprochen, wo es sich um die Coli-Gruppe handelt.

Da, wie erwähnt, keine eingehenden oder auch nur einigermaßen ausführlichen Untersuchungen über die gegenseitigen Agglutinationsverhältnisse der für Kälber pathogenen Coli-Formen vorliegen, war es notwendig, diese Frage selbständig zu untersuchen. Und da wir diese Bakterien im Vorhergehenden auf Grund ihrer Vergärungsverhältnisse in bestimmte Typen haben einteilen können, war es natürlich, eine Untersuchung der Agglutinationsfrage auf Grund dieser Einteilung anzustellen.

Es wurden daher agglutinierende Seren aus Vertretern der verschiedenen Vergärungstypen hergestellt. Bei den allermeisten fand die Herstellung an Kaninchen statt; nur einzelne Seren wurden an Ziegen hergestellt. Zur Immunisierung wurden 20—24 Stunden alte Bouillonkulturen angewandt. Die Injektionen fanden statt intravenös mit Intervallen von 7—10 Tagen und bei gleichmäßig zunehmenden Kulturgaben. In der Regel begann die Immunisierung mit Injektion abgetöteter Kulturen (Erwärmung auf 60° in 15 Minuten); nach einigen Injektionen mit zunehmenden Gaben hiervon wurden lebende Kulturen angewandt. In der Weise gelingt es in der Regel, die Immunisierung ohne größeres Mißraten zu vollführen. Aber viele der Stämme wirken doch bei den fortgesetzten Injektionen mehr oder minder stark auf die Kaninchen. In dieser Beziehung weisen die verschiedenen Stämme übrigens große Verschiedenheiten auf; während einige von ihnen sogar in recht großen Mengen (mehreren Kubikzentimetern) ohne irgendwelche Unbill vertragen werden, rufen viele Stämme bereits bei kleinen Gaben eine chronische Abmagerung oder eine Parese des Hinterkörpers hervor, und wieder andere Stämme können bei intravenöser Injektion von kleinen Mengen ($^1/_{10}$ ccm) eine akute, tödlich verlaufende Infektion bewirken; die Sektion kann dann eine heftige, hämorrhagische Nephritis und Enteritis ergeben. Die Zeitdauer der Behandlung und die Menge des injizierten Antigens waren bei den verschiedenen Stämmen höchst verschieden; denn die Stämme ergaben sich als sehr verschieden in betreff ihres Vermögens, eine Agglutinationsbildung hervorzurufen. Während einige Stämme bereits nach wenigen Injektionen eine so kräftige Agglutininproduktion veranlaßt hatten, daß das betreffende Serum einen Titer von 1:10000 oder mehr aufwies, ergaben andere eine weit schwächere Agglutininbildung, und bei einzelnen Stämmen gelang es überhaupt, trotz langwieriger Immunisierung, nicht, die Bildung einer nennenswerten Menge Agglutinin (Titer des Serums 1 : 10 bis 1 : 25) hervorzurufen.

Was die Technik bei der Ausführung der Agglutinationen selbst betrifft, so wurden in der Regel als Antigen 18—20 Stunden alte Bouillonkulturen benutzt. Von Serumverdünnungen wurde in der Regel folgende Reihe angewandt: 1 : 100, 1 : 500, 1 : 1000, 1 : 5000 und 1 : 10000. Es wurde abgelesen nach 4-stündigem Aufenthalt im Thermostaten bei 37°, und zwar nur makroskopisch.

Von besonderem Interesse war nun die Frage, ob die Gruppierung, die wir durch die Gärungsproben fanden, sich auch aufrechterhalten ließ, wenn das Reaktionsvermögen der Einteilung zugrunde gelegt wurde, ob also, mit anderen Worten, die Stämme, die bestimmte der oben erwähnten Stoffe vergärten, auch in betreff ihres Agglutinationsverhältnisses identisch sind — d. h. in derselben Weise und von denselben Seren beeinflußt werden. Wenn dies der Fall wäre, würde es in hohem Grade dafür sprechen, daß die zu demselben Vergärungstypus gehörenden Stämme tatsächlich durchaus identisch sind.

Die zu demselben Vergärungstypus gehörenden Stämme wurden daher erst mit einem mittels eines dieser Stämme hergestellten Serums agglutiniert. Indessen zeigte es sich sehr bald, daß Stämme, die ganz in derselben Weise vergärten, oft in agglutinatorischer Beziehung verschieden waren; so konnte ein mittels eines zu einem bestimmten Gärungstypus gehörenden Stammes hergestelltes Serum einige der zu demselben Typus gehörenden Stämme ebenso stark beeinflussen wie der homologe Stamm; aber andere Kulturen mit demselben Gärungsvermögen wurden weit schwächer beeinflußt und eine große Anzahl oft gar nicht. Zur näheren Veranschaulichung dieses Verhältnisses werden hier die Untersuchungen angeführt, die innerhalb des größten und am häufigsten vorkommenden Vergärungstypus (Typus A I) angestellt worden sind. Wie früher erwähnt, umfaßt das Material bei diesem Typus 131 Kulturen. Mit einer davon wurde ein Serum an einem Kaninchen hergestellt, und mit diesem Serum, dessen Titer ca. 1 : 10000 war, wurden die 131 Stämme agglutiniert. Es ergab sich dadurch sofort ein bedeutender Unterschied zwischen den untersuchten Stämmen. Während 53 davon bis zur Titergrenze agglutiniert wurden, wurden 30 Stämme zwar beeinflußt, aber nur in geringem Grade und im übrigen recht verschieden; die übrigen 48 Stämme wurden dagegen gar nicht von dem genannten Serum agglutiniert, jedenfalls nicht von der Verdünnung 1 : 100. Um das Verhältnis näher zu untersuchen, wurden daher agglutinierende Seren mit 3 der zuletzt genannten Stämme hergestellt. Mit 2 davon gelang es, recht hoch agglutinierende Seren an Kaninchen (Titer bzw. 1 : 10000 und 1 : 20000) herzustellen; dagegen rief der dritte Stamm nur sehr wenig Agglutininbildung hervor; trotz langwieriger Behandlung des Kaninchens mit lebenden Bakterien stieg der Titer nicht über 1 : 40. Sämtliche 131 Stämme wurden danach gegenüber den 3 Seren geprüft. Es ergab sich nun, daß 2 davon sich in der Hauptsache gleich verhielten, indem sie dieselben Stämme in derselben Weise, aber verschieden von dem erstgenannten Serum, agglutinierten. Die beiden entsprechenden Stämme verhielten sich auch ganz gleich gegenüber allen untersuchten agglutinierenden Seren.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Das dritte, sehr schwach agglutinierende Serum beeinflußte nur 13 von den 131 Stämmen und nur in Verdünnungen von 1:25 bis 1:100.

Das Ergebnis der angestellten Agglutinationsproben war also, daß wir mittels der 4 besprochenen Seren (von denen 2 sich sogar als nahezu identisch ergaben) imstande waren, die in betreff ihres Gärungsvermögens durchaus identischen 131 Coli-Stämme in eine ganze Reihe agglutinatorisch verschiedener Gruppen zu sondern. Und die Wahrscheinlichkeit spricht dafür, daß wir durch Anwendung von mehreren Seren die Anzahl in recht bedeutendem Grade würden steigern können.

In ähnlicher Weise wie dieser Coli-Typus verhalten sich mehrere der anderen Typen, und auch innerhalb jeder einzelnen von ihnen kann man eine Reihe in agglutinatorischer Beziehung verschiedener Formen unterscheiden.

Eine ebenso wichtige Frage war es nun, wie sich die verschiedenen Vergärungstypen gegenseitig in agglutinatorischer Beziehung verhalten; denn wenn es irgendeine Uebereinstimmung zwischen dem Gärungsvermögen und dem Agglutinationsverhältnis gab, so durften verschiedene vergärende Formen sich nicht betreffs der Agglutination als identisch ergeben.

Mit dem oben erwähnten Serum (Typus A I) wurde sodann eine Agglutinationsprobe gegenüber sämtlichen zu anderen Vergärungstypen gehörenden Stämmen angestellt. Es ging daraus hervor, daß Formen, die zu ganz verschiedenen Vergärungstypen gehören, dennoch in betreff ihres Agglutinationsverhältnisses identisch sein können. So agglutinierte das A I-Serum eine große Anzahl der geprüften A II-Stämme, allerdings etwas schwächer als der homologe Stamm; aber sowohl innerhalb der Typen A IV, B IV, B V als B VI fanden wir eine große Anzahl Stämme, die von dem genannten Serum bis zu dessen Titergrenze beeinflußt wurden. Namentlich gilt dieses von einer auffallend großen Anzahl von B VI-Stämmen (14 von 24); dies ist um so sonderbarer, als gerade die B VI-Stämme in betreff des Gärungsvermögens die vom Typus A I am meisten abweichenden sind; die beiden Typen verhalten sich nämlich verschieden gegenüber allen 4 Stoffen (Saccharose, Sorbose, Dulcit und Adonit), auf die wir ja, wie oben erwähnt, die Einteilung in Vergärungstypen begründeten. Nur ein paar der Vergärungstypen (A V, A VI und B II), die nur durch ganz wenige Stämme vertreten sind, ergaben negative Agglutination mit dem erwähnten A I-Serum. Im großen ganzen muß man sagen, daß die Resultate der Agglutinationsversuche mit diesem Serum in allem Wesentlichen dieselben sind für den entsprechenden Typus (A I), wie für alle übrigen Vergärungstypen. Daraus geht klar hervor, daß sich keine Uebereinstimmung zwischen den Vergärungs- und Agglutinationsverhältnissen der untersuchten Coli-Bazillen auffinden läßt. Dies ist insofern zu bedauern, als es nun nicht möglich ist, weder auf Grund des Vergärungsvermögens, noch der Agglutination zu einer sicheren Einteilung der Coli-Formen zu gelangen. Die Einteilung in die Vergärungstypen auf Grund des Vermögens der Coli-Bazillen, verschiedene Stoffe zu spalten, gibt uns ja, wie wir sehen, ganz andere Rahmen als diejenigen, die wir erhalten würden, wenn wir die Einteilung nach dem Aggluti-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

nationsverhältnisse vollzögen. Wenn wir, wie man es ja tun muß, von einer Einteilung verlangen, daß sie Formen, die verschieden sind, voneinander unterscheiden und nur ganz identische Formen innerhalb ihrer Rahmen zusammenstellen soll, so können wir also weder das Vergärungsvermögen allein, noch das Agglutinationsverhältnis allein als Grundlage der Einteilung verwerten, sondern müssen diese auf beide begründen. Dies führt indessen dazu, daß wir eine sehr große Anzahl von Gruppen aufstellen müssen, da jede Vergärungsgruppe den Agglutinationen gemäß in eine Anzahl Untergruppen zerfällt und verschiedene vergärende Formen sich in betreff der Agglutinationsverhältnisse als identisch ergeben; in Wirklichkeit wird eine solche Einteilung so kompliziert sein, daß sie praktisch unanwendbar sein wird.

Wenn die Coli-Bazillen auch in agglutinatorischer Beziehung nicht in dem Grade variieren, daß jeder einzelne Stamm etwas für sich darstellt, so sind sie doch so mannigfaltig, daß eine wirkliche Identifizierung sich kaum auf Grund der Agglutinationsreaktionen bewerkstelligen läßt. Dasselbe trifft in noch höherem Grade zu bei der anderen Serumreaktion, der Komplementbindungsreaktion.

Komplementbindungsreaktion.

Diese Reaktion, die ja bei anderen Bakterien mit der Agglutinationsreaktion übereinstimmt und oft bei der Identifizierung von vorzüglichem Nutzen ist, ergibt sich in dieser Beziehung der Coli-Gruppe gegenüber als ganz unanwendbar.

Untersuchungen über die Komplementbindungsreaktion gegenüber Coli sind angestellt worden von **Altmann**, **Altmann und Rauth** und **Amiradzibi**. Diese Forscher kamen zu dem ganz übereinstimmenden Resultat, daß ein mit einem Coli-Stamme hergestelltes Immunserum nur mit dem homologen Stamme eine deutliche Komplementbindung ergibt, dagegen eine schwächere oder gar keine Bindung mit heterologen Stämmen. Ferner wiesen sie nach, daß die agglutinierenden und die komplementbindenden Antistoffe verschieden und voneinander unabhängig waren, indem ein Coli-Serum, das stark agglutinierend wirkte, mit demselben Stamm eine ganz schwache Bindung ergeben konnte, und umgekehrt, daß ein Serum, ohne eine Agglutination zu ergeben, eine starke Komplementbindung ergeben konnte.

Die von mir mit den für Kälber pathogenen Coli-Bazillen angestellten Versuche haben die Resultate der früheren Untersuchungen durchaus bestätigt. Eine deutliche Komplementbindung erzielte man nur mit 2 homologen Stämmen; die heterologen Stämme ergaben — der Agglutinationsverhältnisse ganz ungeachtet — in der Regel nur unvollständige oder negative Bindungen.

Zu den Versuchen wurde ein Teil derselben Seren angewandt wie zu den Agglutinationsversuchen — die meisten waren Kaninchenseren — ein paar waren Ziegenseren. Als Antigen wurden frische, ca. 18 Stunden alte Bouillonkulturen (Cibils Bouillon) benutzt, die durch $^1/_2$-stündige Erwärmung auf 60° abgetötet worden waren. Die Gabe betrug 0,1 oder 0,2 ccm. Ein solches Antigen wirkte in keinem Falle bei Gaben bis 1 ccm spontan hemmend auf die Hämolyse; dagegen wirkten 24 Stunden alte oder noch ältere Bouillonkulturen sowie aufgeschwemmte Agarkulturen bei vielen Coli-Stämmen stärker spontan hemmend auf die Hämolyse. Keins von den Antigenen wirkte spontan hämolysierend.

In dem hämolytischen System wurden Ziegenblutkörperchen und Ziegenhämolysin (an Kaninchen hergestellt) angewandt sowie Meerschweinchenkomplement. Im übrigen war die angewendete Technik die allgemein benutzte; es wurde jedoch mit stärkeren Verdünnungen und geringeren Flüssigkeitsmengen gearbeitet als gewöhnlich (1 Proz. Blutkörperchen-Aufschwemmung, statt, wie gewöhnlich, 5 Proz., und entsprechend geringere Mengen Hämolysin und Komplement; die gesamte Flüssigkeitsmenge in jedem Glas betrug 2,5, statt 5 ccm usw.).

In der Tabelle I sind 9 der untersuchten Seren und ihre Komplementbindungs- und Agglutinationsverhältnisse den entsprechenden 9 Stämmen gegenübergestellt. Einige Seren, wie 733, 991, 1377 und 1230, ergeben eine deutliche Bindung nur mit dem homologen Stamm, während sie mit den heterologen Stämmen keine oder nur eine partielle Bindung in den geringsten Serumverdünnungen ergeben. Serum 1230 ergibt jedoch mit ein paar heterologen Stämmen (934, 602 und 621) totale Bindung in der Verdünnung 0,1 und partielle Bindung mit den übrigen Stämmen in Verdünnungen 0,1 und 0,05. Serum 621 ergibt deutliche, spezifische Bindung, außer mit den homologen Stämmen, auch mit Stamm 602 und ergibt spezielle Bindung mit allen übrigen Stämmen in den Verdünnungen 0,1, 0,05 und 0,01. Serum 602 ergibt nur sehr geringe Bindung mit dem homologen Stamme (und mit Stamm 621), und die beiden Seren 599 und 1236 ergeben gar keine Bindung, auch nicht mit den homologen Stämmen. Zu den 3 letztgenannten Seren ist zu bemerken, daß 2 davon an Ziegen (599 und 602) und das dritte, 1236, an einem Schaf hergestellt worden ist, woraus sich sicherlich der geringe Gehalt dieser Seren an Ambozeptoren auch gegenüber dem homologen Stamm erklärt. Es ist nämlich von Hindersson nachgewiesen worden, daß jedenfalls beim Schafe die Bildung komplementbindender Antistoffe gegenüber für Kälber pathogenen Coli-Stämmen sehr langsam vonstatten geht, und die Annahme mag wahrscheinlich sein, daß etwas Aehnliches bei der Ziege der Fall ist.

Schließlich ergibt Serum 943 totale Bindung mit allen untersuchten heterologen Stämmen in den Verdünnungen 0,1 und 0,5, mit dem homologen Stamm in Verdünnungen bis zu 0,001. Die Bindungen in den geringen Verdünnungen sind indessen kaum spezifisch; sie beruhen sicherlich auf dem Vorhandensein von Normalambozeptoren; solche kommen nämlich in einigen Kaninchenseren vor; so wies Hindersson nach, daß einige Normalkaninchenseren Komplementbindung ergaben mit Coli in Gaben bis 0,05, und ein Normalkaninchenserum, das gegenüber den obengenannten 9 Stämmen geprüft wurde, ergab totale Bindung mit ihnen allen in Verdünnung 0,1.

Aus Tabelle I geht ferner deutlich hervor, daß die hier ausgeführten Untersuchungen durchaus Altmanns und Amiradzibis Angaben bestätigen, daß die Bildung der komplementbindenden und agglutinierenden Antistoffe ganz unabhängig voneinander vonstatten geht. So sehen wir beispielsweise, daß Serum 733, das Stamm 1377 in der Verdünnung 1:10000 kräftig agglutiniert, in der Verdünnung 1:10 mit diesem Stamm nicht die geringste Bindung ergibt; in ähnlicher Weise verhält sich Serum 1377 den Stämmen 602 und 621 gegenüber. Und umgekehrt finden wir, daß Serum 991, das den homologen Stamm nur

Tabelle I.

Stamm No.	Serum 733		Serum 1377		Serum 991		Serum 599		Serum 1230		Serum 1236		Serum 943		Serum 602		Serum 621	
	Komplement-bindung	Agglutination	Komplement-bindung	Agglutination	Komplement-bindung	Agglutination	Komplement-bindung	Agglutination	Komplement-bindung	Agglutination	Komplement-bindung	Agglutination	Komplement-bindung	Agglutination	Komplement-bindung	Agglutination	Komplement-bindung	Agglutination
733 (Typus A I)	**0,001**	**0,0002**	0	0,0002	0	0	0	0,0002	0,05	0,01	0	0	0,01	0	0	0,0001	0,05	0,0001
1377 (Typus A I)	0	0,0001	**0,001**	**0,0001**	0	0	0	0,001	0,1	0	0	0	0,05	0	0	0,0001	0,1	0,0001
991 (Typus A I)	0	0	0	0	**0,002**	**0,02**	0	0	0,05	0	0	0	0,01	0	0	0	0,05	0
599 (Typus A III)	0,1	0,001	0	0,001	0	0	**0**	**0,0001**	0,05	0,002	0	0,002	0,01	0	0	0,0001	0,05	0,0001
1230 (Typus A IV)	0	0	0	0	0	0	0	0,002	**0,001**	**0,0001**	0	0,001	0,01	0	0	0	0,05	0
1236 (Typus A VI)	0	0	0	0	0	0	0	0,04	0,05	0	**0**	**0,0002**	0,01	0	0	0	0,05	0
943 (Typus B II)	0	0	0	0	0	0	0	0	0,05	0	0	0,04	**0,001**	**0,001**	0	0	0,05	0
602 (Typus B VI)	0	0,0002	0	0,0001	0	0	0	0,0001	0,05	0	0	0,04	0,01	0	**0,05**	**0,0001**	0,001	0,0002
621 (Typus B VI)	0	0,0001	0	0,0001	0	0	0	0,0002	0,05	0	0	0,04	0,01	0	0,05	0,0001	**0,001**	**0,0002**

In Tabelle I bezeichnen die angeführten Zahlen die kleinste Serumgabe, bei der eine Reaktion beobachtet wurde; 0 bedeutet keine Reaktion.

in der Verdünnung 1:25 zu agglutinieren vermag, nichtsdestoweniger recht bedeutende Mengen komplementbindender Antistoffe enthält, indem es mit Stamm 991 in Verdünnungen bis 0,005 totale Bindung ergibt.

Die Komplementbindung leistet uns also durchaus keinen Nutzen bei der Identifizierung der verschiedenen Coli-Formen. Es ist also nicht gelungen, auf Grund von kulturellen und biologischen Verschiedenheiten eine befriedigende und praktisch anwendbare Gruppierung der für Kälber pathogenen Coli-Bazillen aufzustellen, indem diese namentlich in serologischer Beziehung eine sehr große Variation aufweisen. Es ist einleuchtend, daß diese Verhältnisse die vergleichenden Untersuchungen zwischen den pathogenen und bei Kälbern normaliter vorkommenden Coli-Bazillen sowie die Beantwortung der Frage von der Identität dieser Formen in nicht geringem Grade erschweren werden.

II. Die im Darme gesunder Kälber vorkommenden Coli-Bazillen.

Der Coli-Bacillus ist, wie bei anderen Säugetieren, auch beim Kalb ein konstant vorkommendes Darmmikrob. Sein Vorhandensein im Darmkanal bei gesunden Kälbern wurde zuerst von C. O. Jensen nachgewiesen, der, wie oben erwähnt, Bakterien hieraus reinkultivierte. C. O. Jensen untersuchte die Eingeweide von 7 gesunden Kälbern, von denen eins 8—12 Tage, die anderen aber nur ein paar Tage alt waren. Die Reinkulturversuche ergaben, daß aus 6 von den Kälbern so gut wie ausschließlich Kolonien von Coli gediehen, und zudem in großer Menge. In mikroskopischen Präparaten des Darminhaltes fanden sich jedoch auch andere Bakterienformen, die aber bei den Kulturversuchen nicht zur Entwickelung kamen. Spätere Untersucher (Ankersmit, Küthe und Fischer), die sich mit der Darmflora der Kälber beschäftigt haben, haben alle das konstante Vorkommen von Coli-Bazillen nachgewiesen; aber eine nähere Untersuchung dieser Bazillen liegt nicht vor, abgesehen von den in der Einleitung erwähnten, von C. O. Jensen angestellten Versuchen, die im wesentlichen auf die morphologischen und kulturellen Verhältnisse sowie die Pathogenität im Vergleich mit den aus Fällen von Kälberruhr isolierten Coli-Stämmen abzielten. Untersuchungen über die Gärungsverhältnisse und serologischen Verhältnisse der bei gesunden Kälbern vorkommenden Coli-Bazillen liegen nicht vor, oder aber es sind derartige Versuche nicht sehr eingehend. Wenn wir uns nun im folgenden mit diesen Coli-Formen beschäftigen, werden wir namentlich diese Verhältnisse untersuchen; im übrigen sind aber unsere Untersuchungen im wesentlichen nach ganz demselben Plan und in demselben Umfang angestellt worden wie die oben beschriebenen, welche die pathogenen Coli-Formen behandelten. Bevor wir zu den eigentlichen Untersuchungen übergehen, schalten wir noch einige Bemerkungen über das benutzte Material ein.

Die Beschaffung des Materials, das in jeder Beziehung einwandfrei ist, bietet nicht geringe Schwierigkeiten dar. Zuvörderst muß man die Forderung aufstellen, daß die Kälber, welche das Material liefern sollen, nicht nur im allgemeinen Sinne gesund sind; man muß sich auch versichern, daß sie im allerengsten Sinne des Wortes gesund sind, d. h. daß sie keine pathogenen Coli-Bazillen im Darme enthalten. Wenn die Kälber auch anscheinend ganz frisch und gesund sind, so ist es ja nicht ausgeschlossen, daß sich in ihrem Darme pathogene Formen finden können. In vielfachen Fällen werden sich sehr wohl im Darme pathogene Coli-Bazillen finden können, ohne daß diese den Gesundheitszustand des Kalbes zu beeinflussen brauchen — sei es, weil die Infektion mit den pathogenen Formen zu einem Zeitpunkte stattfindet, wo das Kalb unempfänglich ist, was es bereits wenige Tage nach der Geburt sein wird, oder weil das Kalb schon von der Geburt an besonders widerstandsfähig oder auch die Infektion zu schwach ist, um eine allgemeine Infektion hervorzurufen — kurz es liegt hier, wie bei jeder Infektionskrankheit, die Möglichkeit hinreichend vor, daß das Leiden, trotz Aufnahme der pathogenen Bakterien, nicht zum Ausbruch kommt. Diese werden sich indessen fortwährend im Darme erhalten, ja vielleicht gar in bedeutendem Grade vermehren können, ohne daß das Tier irgendein Krankheitssymptom aufweist; aber die Darmflora des Tieres kann dennoch nicht als normal bezeichnet werden — sie kann sicherlich oft sehr anormal sein. In jedem Bestande, wo die Coli-Bazillose auftritt, epidemisch oder sporadisch, wird man also die Möglichkeit nicht ausschließen können, daß sogar die anscheinend ganz gesunden Kälber pathogene Coli-Bazillen im Darme enthalten können; denn, wie die Verhältnisse in den allermeisten Kälberbeständen liegen, werden sich die pathogenen Bakterien überall (am Stallboden und an den im Stalle vorhandenen Tieren und Gegenständen) finden können, und sie werden von hier aus sehr leicht in den Darm der jungen Tiere übertragen werden können, wenn die Tiere von der Mutter gesäugt werden, aus unreinen Eimern trinken oder an den im Stalle vorhandenen Gegenständen lecken usw. Nun ist indessen die Coli-Bazillose ein sehr verbreitetes Leiden, das sozusagen stationär in einer Menge von Beständen vorkommt, und es ist daher von der größten Wichtigkeit, daß man bei der Wahl von Material vorsichtig ist, wenn es sich darum handelt, über die normal vorkommenden Bakterien zu verfügen. Es ist daher ganz unzulänglich, sich das Material aus irgendeinem Schlachthause zu holen, wie es die meisten Untersucher getan haben, die sich mit der normalen Darmflora bei Kälbern beschäftigt haben, ohne daß man darüber im reinen ist, wo die betreffenden Kälber herstammen; denn man besitzt keine Garantie dafür, daß die Bakterien, speziell wenn von Coli-Formen die Rede ist, die man bei solchen Tieren vorfindet, nicht tatsächlich pathogene Formen sind, die in dem eventuell infizierten Bestande, aus dem die Kälber stammen, Aufnahme gefunden haben, oder auch während des Transportes oder im Schlachthause aufgenommen worden sind. Die Infektionsquellen können mannigfaltig sein.

Die einzige Weise, in der man sich eines brauchbaren Materials zur Untersuchung von normaliter vorkommenden Coli-Bazillen bei Kälbern versichern kann, ist, sich das Material aus Beständen zu holen, wo lange Zeit hindurch kein Fall von Coli-Bazillose (Kälberruhr) vorgekommen ist. Bestände dieser Art kommen indessen nicht häufig vor. Es findet sich kaum in der unmittelbaren Umgegend von Kopenhagen ein Bestand, der nicht durch das genannte Leiden infiziert ist. Indessen gelang es doch, einzelne Bestände ausfindig zu machen, welche die genannten Bedingungen erfüllen konnten, und von 6 von diesen Gehöften ist das Material geholt worden. Im ganzen wurden aus diesen Beständen 25 Kälber untersucht, im Alter von ca. 20 Stunden bis 9 Tagen. Nachdem die Kälber geschlachtet waren, fand eine genaue makro- und mikroskopische Untersuchung des Inhaltes der verschiedenen Darmabschnitte statt, und Kulturversuche wurden daraus gemacht. Da es, damit das ursprüngliche Bild der Darmflora sich nicht durch postmortelle Vegetation der vorhandenen Bakterien verändern sollte, wünschenswert war, daß die Untersuchung so schnell wie möglich nach der Tötung des Kalbes stattfinden konnte, wurden die Kälber, soweit dies möglich war, lebend von den Beständen direkt an das Laboratorium eingesandt, wo die Tötung stattfand und die Untersuchung unmittelbar nach der Tötung bewerkstelligt werden konnte. In dieser Weise wurden im ganzen 15 Kälber in einem Alter von 2—9 Tagen untersucht. Der Versand vom Bestande ans Laboratorium geschah in einer speziell dazu konstruierten, ganz dichten Kiste, so daß die Möglichkeit einer Infektion während des Transportes ausgeschlossen war; nach jeder Benutzung wurde die Transportkiste gründlich gereinigt und desinfiziert, bevor sie wieder benutzt wurde. Während Kälber in dem angegebenen Alter stets sogar einen längeren Transport ohne Unbill ertragen, werden jüngere Kälber, speziell ganz neugeborene, einen längeren Transport schwerlich ertragen können. Die Tötung von ungefähr 24 Stunden alten Kälbern (im ganzen 10 Stück) fand daher an Ort und Stelle statt, wonach die Verdauungsorgane so schnell wie möglich ans Laboratorium eingesandt wurden. Das aus dem einen Bestande stammende Material konnte bereits ein paar Stunden nach der Tötung untersucht werden; von den beiden anderen Beständen dauerte der Versand etwas länger, und in einigen Fällen war es notwendig, das Material die Nacht hindurch in Kälteräumen (bei 5—6°) aufzubewahren; nach unserem Erachten war diese Verzögerung ohne Einfluß auf die Verhältnisse.

Im übrigen wurden die untersuchten Kälber vor der Tötung in ganz derselben Weise behandelt, wie die Kälber in den betreffenden Beständen gewöhnlich behandelt werden. Die Ernährung bestand meist aus der Muttermilch; ein einzelnes von den Kälbern hat sich die ganze Zeit hindurch bei der Mutter aufgehalten und ist von dieser genährt worden. Die lebend eingesandten Kälber mußten, je nach der Zeitdauer des Transportes, längere oder kürzere Zeit hindurch, bevor die Tötung stattfand, fasten. Von ihnen allen gilt, daß sie in jeder Beziehung gesund und frisch waren; namentlich war durchaus keine klinische Diarrhöe nachzuweisen.

Außer den 25 jungen Kälbern wurden ferner 8 etwas ältere (einige Monate alte) untersucht. Diese sind im wesentlichen herangezogen worden, um einen Vergleich anzustellen zwischen der Coli-Flora bei Kälbern, welche hauptsächlich von Pflanzenfutter lebten, und der bei Spankälbern vorkommenden typischen Milchflora. Ueber die betreffenden Kälber liegen keine näheren Nachrichten vor; es war ein zufälliges Schlachthausmaterial.

Wie erwähnt, waren 10 von den untersuchten Spankälbern ungefähr 24 Stunden alt; 3 Kälber waren 2 Tage, 4 $2^1/_2$ Tage, 4 3 Tage, 2 $3^1/_2$ Tage, 1 6 und 1 9 Tage alt. Weder die Beschaffenheit der Darmflora, noch die bakteriologischen Verhältnisse des Darmkanals wiesen größere Unterschiede auf; die ganz jungen Kälber stimmten in dieser Beziehung im wesentlichen mit den älteren (einige Tage alten) überein. Die Ernährung war ja auch bei allen diesen Kälbern dieselbe, nämlich ausschließlich Milch.

Die Untersuchung bestand darin, daß verschiedenen Abschnitten des Verdauungskanals Proben des Inhaltes entnommen wurden, und zwar unter sterilen Kautelen, d. h. sorgfältigem Abbrennen der Oberfläche der betreffenden Region und Entnahme des Inhaltes mit sterilen Instrumenten. In der Regel wurden untersucht: Labmagen, Dünndarm (der vorderste und der hinterste Teil), Coecum und Colon.

Der Labmagen enthielt in den allermeisten Fällen eine mehr oder minder reichliche Menge „geronnene“ Milch, so daß sich in ihm größere oder kleinere Kaseïnklumpen und eine molkenähnliche, recht stark schleimige Flüssigkeit fanden. In einigen Fällen, wo das Kalb längere Zeit hindurch gefastet hatte, fand sich nur eine geringe Menge von stark schleimigem Inhalt im Labmagen. Wo ein einigermaßen reichlicher Inhalt vorhanden war, reagierte dieser immer sauer. In zwei Fällen, wo sich nur eine geringe Menge Schleim fand, war die Reaktion doch deutlich alkalisch.

Der Inhalt des Dünndarmes war gleichfalls mehr oder minder reichlich, je nachdem das Kalb kürzere oder längere Zeit hindurch gefastet hatte. Die Beschaffenheit konnte auch recht verschieden sein. Wo sich ein reichlicher Inhalt fand, war dieser meist ganz dünnflüssig und weniger stark schleimig, während ein minder reichlicher Inhalt meist dickflüssig und schleimig war. In einigen Fällen war der Inhalt ganz homogen, in der Regel war er doch etwas flockig, und wenn man ihn stehen ließ, setzte sich oft ein sehr voluminöser, flockiger Bodensatz ab. Die Reaktion des Darminhaltes, namentlich aus dem hintersten Abschnitt, war in den meisten Fällen deutlich alkalisch; bei 2 Kälbern war die Reaktion schwach sauer; in diesen beiden Fällen wurde in dem Inhalt einige Gärung (Gasentwickelung) beobachtet.

Im Coecum und Colon war der Inhalt in der Regel von im wesentlichen derselben Beschaffenheit, meist jedoch von etwas festerer Konsistenz im letztgenannten Abschnitt. Er war stets dickflüssiger als der Dünndarminhalt, konnte im übrigen aber von recht verschiedener Konsistenz (flüssig bis salbenartig) sein. Bei mehreren von den ganz jungen Kälbern bestand nämlich der Coloninhalt zum großen Teil aus Mekonium. Recht oft fand sich hier eine deutliche Gärung. Im Gegensatz zum Dünndarminhalt, der ganz geruchlos war, roch der Inhalt der hintersten Darmabschnitte stets ausgeprägt kotartig. Die Reaktion war in einigen Fällen dieselbe wie beim Darminhalt. Aber oft schien doch der Coecum- und Coloninhalt etwas saurer (oder weniger alkalisch) zu reagieren.

Der Inhalt der oben besprochenen Abschnitte wurde in allen Fällen mikroskopisch untersucht. Es wurde dabei Färbung nach Gram und Nachfärbung mit Neutralrot oder verdünntem Fuchsin benutzt. Bei diesem Verfahren erhält man einen ganz außerordentlich guten Ueberblick über die vorhandene Flora. Im Labmagen trifft man meist eine recht einheitliche Flora, die, insofern sich durch Mikroskopie entscheiden läßt, nicht viele Bakterienformen enthält. In der Regel sind große, grampositive Stäbchen (Milchsäurestäbchen) sowie große ovale Diplo- oder Streptokokken (Milchsäurekokken) in dem mikroskopischen Bild vorherrschend. Coli-ähnliche Bakterien können in recht großer Anzahl vorkommen, können aber auch nur in geringer Anzahl vorhanden sein.

Im Dünndarm trifft man im wesentlichen dieselben Formen; meist sind aber die Coli-ähnlichen Bakterien hier verhältnißmäßig zahlreicher. Im übrigen kann die Anzahl der Bakterien, und

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

zwar besonders der Coli-ähnlichen Formen, in ganz außerordentlich hohem Grade im Dünndarminhalt verschiedener Kälber schwanken. In einigen Fällen, und zwar besonders bei denjenigen Kälbern, wo eine reichliche Nahrungsaufnahme stattgefunden hat, und wo infolgedessen ein reichlicher Darminhalt vorhanden ist, ist die Anzahl der Bakterien in diesem Abschnitte mitunter sehr gering, so daß man das Präparat durchsuchen mußte, um sie zu finden; meist finden sich aber doch etliche, wenn auch nicht viele Bakterien; zu anderen Malen kann man dagegen recht bedeutende Mengen von Bakterien, namentlich Coli-Bakterien, antreffen, während andere Formen nur in geringer Anzahl vorhanden sind. Die Coli-Bazillen kommen entweder vereinzelt, gleichmäßig über das Gesichtsfeld verteilt, oder in größeren oder kleineren Haufen vor; oft liegen diese augenscheinlich in Schleimflöckchen eingebettet. In den meisten, aus dem Dünndarm stammenden Präparaten wurde in der Regel eine große Anzahl abgestoßener Epithelzellen beobachtet.

Während also die Anzahl der Bakterienformen — allenfalls derjenigen, die einigermaßen zahlreich vorhanden sind — sowohl im Labmagen als auch im Dünndarm verhältnismäßig gering ist, liegt die Sache anders, wenn wir zu den hintersten Darmabschnitten, Coecum und Colon, kommen; hier findet sich in der Regel eine große Anzahl von Bakterienarten, von denen mehrere oft reichlich vertreten sind. Bei sämtlichen untersuchten 25 jungen Kälbern wurden Coli-ähnliche Bakterien in bedeutender Anzahl beobachtet. Insofern war die Bakterienflora also in diesen Abschnitten eine einheitliche; von den übrigen vorkommenden Bakterienformen können aber verschiedene bei den verschiedenen Kälbern vorherrschend sein. Das makroskopische Bild des Coecum- und Coloninhaltes sowie der Faeces ist im übrigen der Hauptsache nach das gleiche.

Bei den untersuchten älteren Kälbern, deren Nahrung ausschließlich aus Pflanzenfutter (Heu) bestand, war der Darminhalt selbstverständlich auch davon geprägt, indem er überall zu einem sehr großen Teil aus Pflanzenteilen bestand; dies gilt namentlich von den hintersten Darmabschnitten (Coecum und Colon), wo der Inhalt von breiartiger Konsistenz war. Im Dünndarm fand sich dagegen stets ein dünnflüssiger, etwas schleimiger Inhalt mit verhältnismäßig wenig festen Partikeln.

Was den Bakterieninhalt des Darmkanals dieser Kälber betrifft, wie er sich durch die Mikroskopie des Darminhaltes zu erkennen gibt, so fanden sich in den meisten Fällen nur wenig Bakterien in dem Darm, — bei einigen Kälbern sogar sehr wenige. Namentlich der vorderste Teil des Dünndarmes war bakterienarm, während ihre Anzahl in den hintersten Darmabschnitten etwas zuzunehmen schien. Das Bild konnte im übrigen recht abwechselnd sein, aber im Vergleich mit dem bei den jungen Kälbern Beobachteten fanden sich verhältnismäßig weit weniger Coli-ähnliche Bakterien, während verschiedene andere Formen, namentlich Kokken, verhältnismäßig vorherrschend waren. Das Nämliche läßt sich eigentlich von der Flora des Coecum und Colon sagen, wenn die absolute Bakterienmenge hier auch größer war als im Dünndarm. Coli-ähnliche Bakterien kamen nur in geringer Anzahl vor; es bestand darin ein sehr bedeutender Unterschied gegenüber dem mikroskopischen Bild, das wir bei den jungen Kälbern antrafen. Wie die Coli-Bazillen, so verhielten sich auch die grampositiven Milchsäurestäbchen, indem sie gleichfalls in weit geringerer Anzahl bei den älteren Kälbern vorkamen. Während die Anzahl der verschiedenen Bakterienformen bei diesen größer zu sein schien, war die gesamte Bakterienmenge der hintersten Darmabschnitte augenscheinlich kleiner als bei den jungen Kälbern.

Kulturversuche. Sobald wie möglich nach der Probeentnahme aus den verschiedenen Darmabschnitten wurden verschiedene Verteilungen daraus angelegt. Da es sich zuvörderst darum handelte, die Verhältnisse der Coli-Bazillen oder der zur Typhus-Coli-Gruppe gegehörenden Bakterien zu untersuchen, wurden stets Plattenverteilungen in Lackmus-Laktose-Agar vorgenommen. Das dazu benutzte Substrat bestand aus einem 2-proz. Agar, dem 2 Proz. Cibils Fleischextrakt und 1 Proz. Wittes Pepton sowie 1 Proz. Laktose und eine angemessene Menge Lackmuslösung zugesetzt waren. Die Reaktion des Substrates war schwach sauer gegenüber Phenolphtaleïn. In jeder Verteilungsreihe wurden 3 Verdünnungen angelegt (in gewöhnlicher Weise in geschmolzenem Substrat); zu jeder Verdünnung wurden 15 ccm des Substrates genommen. Die angewandten Verteilungsschüsseln hatten einen Durchmesser von ca. 15 cm. Eine exakte quantitative Bestimmung der vorkommenden Bakterien fand nicht statt. Erst wurde die Bakterienmenge mikroskopisch abgeschätzt, und darauf wurde eine größere oder kleinere Menge des Darminhaltes ausgesät. Fand sich, wie im Darminhalt von jungen Kälbern, eine sehr reichliche Flora, so wurde eine kleine Oese voll Darminhalt entnommen und aufgeschwemmt und in 25 ccm steriler NaCl-Lösung verteilt. Von dieser Aufschwemmung wurde 1 Tropfen zu 15 ccm Substrat (erste Verdünnung) genommen, danach wieder 1 Tropfen zu 15 ccm Substrat (zweite Verdünnung) usw. Ergab die mikroskopische Untersuchung nur einen geringen Bakterieninhalt, so wurden 1—2 Oesen voll Darminhalt direkt in das Substrat ausgesät (erste Verdünnung). Auf diese Weise gelang es stets, in jeder Verteilungsreihe ein paar Platten mit wohl isolierten Kolonien zu erhalten.

Die besäten Platten standen 20 Stunden bei 37°, nach welcher Zeit sie untersucht wurden. In den allermeisten Fällen war das Resultat recht überraschend; denn wenn auch bei der mikroskopischen Untersuchung eine sehr bunte und gemischte Flora beobachtet worden war, so zeigten die entsprechenden Platten fast immer so gut wie Reinkulturen von Coli-Kolonien. Es entwickelte sich augenscheinlich eine weit geringere Anzahl von Kolonien, als man nach der Anzahl der Bakterien in den mikroskopischen Präparaten hätte erwarten sollen. Möglicherweise liegt das darin, daß ein Teil der beobachteten Bakterien tot waren, und schließlich ist es auch sehr wahrscheinlich, daß Zusammensetzung und Reaktion des Nährbodens einem Teil der übrigen Bakterienformen nicht entspricht. Wie man ja auch nach dem mikroskopischen Bild bei den verschiedenen Kälbern und in den verschiedenen Darmabschnitten erwarten konnte, war die auf den Platten entwickelte Menge von Coli-Kolonien höchst verschieden; sie stimmte übrigens aber gut überein mit der Anzahl der Coli-Bazillen, die durch die mikroskopische Untersuchung beobachtet wurde. So entwickelte sich bei den jungen Kälbern stets eine große Anzahl von Coli-Kolonien aus den hintersten Darmabschnitten und bei einigen auch aus dem Dünndarm; in anderen Fällen war die Menge der Coli-Kolonien, namentlich angesichts des bedeutenden Aussaatmaterials (1—2 große Oesen), nur gering. Die älteren Kälber ergaben — mit dem mikroskopischen Befund übereinstimmend — eine verhältnismäßig weit geringere Anzahl von Coli-Kolonien als die jungen Kälber. Bei einem einzelnen schienen Coli-Bazillen sogar im Dünndarm zu fehlen, und die hintersten Darmabschnitte ergaben, trotz sehr reichlicher Aussaat, nur einzelne Coli-Kolonien. Auch 2 andere Kälber ergaben nur sehr wenig Coli-Bazillen aus allen Darmabschnitten.

Außer auf Lackmus-Laktose-Agar, wurden gleichzeitig Verteilungen auf anderen Nährböden angelegt — in erster Reihe auf Gelatine, um womöglich abweichende Coli-Formen (B. aërogenes) oder andere, zu derselben Bakteriengruppe gehörende Formen anzutreffen. Gewöhnlich gediehen nur ganz typische Coli-Bazillen; die Aërogenes-ähnlichen Formen werden später für sich besprochen werden. Recht oft fanden sich auf den Gelatineplatten einzelne verflüssigende Formen (B. mesentericus, B. proteus, Actinomyces-Arten sowie Kokken); es waren aber in der Regel nur wenige. Die vorherrschenden Kolonien waren hier — wie auf den Laktoseplatten — Coli-Kolonien.

Auch andere Nährböden, wie Coffeïn-Dextrose-Agar (2 Proz. Citras natrico-coffeinicus; 1 Proz. Dextrose) und Dextrose- oder Serum-Agar wurden gelegentlich angewandt. Das Coffeïn wirkt ja in hohem Grade hemmend auf das Wachstum der Coli-Bazillen; der genannte Nährboden wurde hier zunächst benutzt, um das Vorhandensein von etwaigen „coffeïnfesten“ Coli-Stämmen nachzuweisen. Solche wurden jedoch nicht nachgewiesen, indem auch nach Aussaat einer großen Menge ein Gewimmel von Coli-Bazillen enthaltenden Materials auf diesem Nährboden keine einzige Coli-Kolonie entstand; dagegen wuchsen verschiedene Kokkenarten auf dem Coffeïnnährboden.

Das Resultat der Untersuchung über die Coli-Flora im Verdauungskanal gesunder Kälber ist also das, daß Coli-Bazillen bei allen untersuchten 34 Kälbern angetroffen wurden, daß aber die Menge dieser Bakterien bedeutend größer ist bei ganz jungen Tieren, die ausschließlich von Milch leben, als bei älteren Kälbern, deren wesentliche Nahrung Pflanzenfutter ist; ferner daß die Coli-Bazillen bei den jungen Kälbern immer im Labmagen und allen Darmabschnitten angetroffen wurden; in größter Menge finden sie sich in den hintersten Abschnitten (Coecum und Colon), während sie im Dünndarminhalt in außerordentlich verschiedener Anzahl vorhanden sein können, bei einigen Kälbern in sehr geringen, bei anderen in großen Mengen.

In der Literatur liegt nur sehr wenig über das Verhalten der Coli-Bazillen im Darme gesunder Kälber vor. Ankersmit, der die Darmflora von 4 Kälbern untersuchte, notiert das Vorhandensein von Coli-Bazillen bei 3, wo sie namentlich im Colon zahlreich waren (das Coecum wurde nicht untersucht); bei dem vierten Kalb wurden dagegen gar keine Coli-Bazillen, auch nicht im Colon, nachgewiesen; nähere Aufschlüsse über dieses Kalb liegen jedoch nicht vor. Küthe, der eine Reihe von Spankälbern untersuchte, gibt an, daß Coli-Bazillen auf „fast allen“ aus dem Darm angelegten Verteilungen wuchsen; Näheres wird jedoch auch von diesem Verfasser nicht mitgeteilt. Schließlich fand Fischer Coli-Bazillen konstant im Darmkanal sowohl bei jungen als auch bei älteren Kälbern und bei erwachsenen Rindern. Er notiert als obligate Darmbewohner beim Kalb außer B. coli commune noch „kokkoide Coli-Formen“ und „B. coli anaërogenes“. Eine eigentliche Untersuchung der gefundenen Coli-Formen scheint Fischer jedoch nicht angestellt zu haben.

Aus den verschiedenen Darmabschnitten wurde eine Reihe der auf den Platten entstandenen Coli-Kolonien isoliert, indem Stichkulturen in Agar angelegt wurden. In der Regel fand der Umstich statt von den Laktoseplatten und den Oberflächenkolonien; soweit es möglich war, wurden solche Kolonien mitherangezogen, die irgendwie (durch die Form oder sonstige Beschaffenheit der Kolonien) von dem gewöhnlichen Typus abzuweichen schienen. Die aus jedem Kalb isolierte Anzahl der Kolonien war sehr verschieden und schwankte von 50 bis 100 Stück, auf die verschiedenen Darmabschnitte verteilt. Durch die Untersuchung einer so großen Anzahl von Kolonien gewann man eine gewisse Garantie dafür, daß die Aufschlüsse über die vorhandene Coli-Flora einigermaßen zuverlässig waren. Im ganzen wurden 1861 Coli-Kulturen aus 25 Spankälbern und 396 Coli-Kulturen aus den verschiedenen Darmabschnitten von 7 älteren Kälbern untersucht.

Wie bei der Untersuchung der pathogenen Coli-Formen, legte ich auch bei der näheren Untersuchung der von gesunden Kälbern stammenden Coli-Formen das Gärungsvermögen gegenüber den verschiedenen Zuckerarten und polyvalenten Alkoholen der ersten Einteilung zugrunde und stellte auf dieser Grundlage weitere Untersuchungen an. Im Folgenden gebe ich Näheres über die Resultate der verschiedenen Untersuchungen an.

In morphologischer Beziehung stimmen die von gesunden Kälbern stammenden Coli-Bazillen ganz mit den pathogenen Formen überein. Dies gilt auch mit Rücksicht auf die Beweglichkeit in hängenden Tropfen. Es fand sich auch hier eine bedeutende Variation zwischen den einzelnen Stämmen. So fanden sich bei der Untersuchung einer Reihe von Coli-Kulturen aus demselben Kalb und aus demselben Darmabschnitt sowohl stark bewegliche als unbewegliche Formen. Kulturen aus demselben Kalb, die sich in jeder Beziehung ganz gleich verhielten, konnten nichtsdestoweniger in betreff der Eigenbewegung weit verschieden sein.

Was das Wachstum auf den gewöhnlichen Nährböden betrifft, so wichen die normaliter vorkommenden Stämme nicht von den pathogenen ab. Ein Teil der Stämme, im ganzen 584, wurde an der Oberfläche von Gelatine ausgestrichen. Mit Ausnahme einiger Aërogenesähnlicher Stämme, die später besprochen werden sollen, wuchsen alle übrigen wie typische Coli.

Es ließ sich also weder in morphologischer noch in kultureller Beziehung irgendein Unterschied zwischen den pathogenen und den normaliter vorkommenden Coli-Formen nachweisen.

Gärungsvermögen.

Das Gärungsvermögen sämtlicher 2257 Kulturen wurde gegenüber allen obengenannten Zuckerarten und polyvalenten Alkoholen in der bei der Besprechung der pathogenen Coli-Bazillen erwähnten Weise untersucht.

Es zeigte sich, daß, von einzelnen Ausnahmen abgesehen, alle Stämme sich nach ihrem Gärungsvermögen in dieselben Gruppen einreihen ließen, die wir bei den pathogenen Coli-Formen aufstellen konnten. Es ließ sich, mit anderen Worten, im großen ganzen kein Unterschied in betreff des Gärungsvermögens der pathogenen und der normaliter vorkommenden Coli-Bazillen nachweisen.

Nichtgaserzeugende Coli-Bazillen wurden kein einziges Mal bei den untersuchten Kälbern nachgewiesen. Dies steht in Widerspruch mit Fischers Angabe, infolge der das „Bacterium coli anaërogenes“ zu den obligaten Darmbakterien bei Kälbern gehören sollte.

Die Untersuchung des Gärungsvermögens der isolierten Coli-Stämme ergab im übrigen mehrere recht interessante Verhältnisse, die im Folgenden näher besprochen werden sollen:

In der Tabelle II sind die aus sämtlichen 32 Kälbern isolierten 2257 Kulturen nach ihren Gärungsverhältnissen und nach den Darmabschnitten, aus denen sie isoliert wurden, aufgestellt. Man sieht sofort, wie bereits erwähnt, daß fast alle Kulturen zu einem der bei den pathogenen Formen besprochenen Vergärungstypen gehören. Nur 19 von den 2257 Kulturen wichen in betreff ihres Gärungsvermögens ab, und die allermeisten davon gehörten zu einem bestimmten Vergärungstypus, der sich dadurch auszeichnet, daß er sämtliche oben erwähnte Stoffe, die zu der Untersuchung benutzt wurden, vergärte; dieser Typus, der sich von Typus A I dadurch unterscheidet, daß er Adonit vergärt, ist bisher nicht als pathogene Form bei Kälbern angetroffen worden.

Aus der Tabelle II geht ferner hervor, daß wir bei einigen Kälbern, und trotz der bedeutenden Anzahl von Kulturen, die von jedem Kalb untersucht wurden, eine sonderbare Uebereinstimmung zwischen dem Gärungsvermögen so gut wie aller aus dem einzelnen Kalb untersuchten Kulturen angetroffen haben. Ja, bei einigen Kälbern, wie Kalb V und XXXI, trafen wir, obgleich aus ersterem 100 und aus letzterem 58 Kulturen untersucht wurden, nur einen bestimmten Typus bei jedem Kalbe (bezw. A II und A IV), und bei einer Reihe von Kälbern (Kalb III, IV, VII, XII, XV, XXIX, XXXII) gehört bei weitem die überwiegende Anzahl der Kulturen (80—95 Proz.) der aus sämtlichen Darmabschnitten isolierten Kulturen zu demselben Vergärungstypus. Man konnte bei allen diesen 9 Kälbern von einem absolut vorherrschenden Typus reden, den wir sozusagen in „Reinkultur“ im Darme finden, und dies gilt nicht nur von den jungen Kälbern; 3 von den obengenannten Kälbern, bei denen dieses Verhältnis nachgewiesen wurde (Kalb XXXI, XXIX und XXXII), waren ältere, ca. $^1/_2$ Jahr alte Tiere. Wie aus der Tabelle hervorgeht, kann bei den verschiedenen Kälbern bald einer, bald ein anderer der Typen vorherrschen. So wurde unter den obengenannten 9 Kälbern der Typus A IV bei 3, der Typus A I bei 2, der Typus A II bei 2 und der Typus B IV und B V je bei einem Kalbe angetroffen.

Bei einzelnen Kälbern wurde eine Reihe verschiedener Typen nachgewiesen, die einigermaßen gleichmäßig vertreten waren, so daß man hier von keinem vorherrschenden Typus reden konnte. Dies ist z. B. der Fall bei Kalb XXXVI, bei dem sich unter 30 untersuchten Kulturen 7 Vergärungstypen vertreten fanden. Weniger ausgeprägt war dasselbe Verhältnis bei Kalb XX, wo wir doch im Labmagen unter 20 untersuchten Kulturen 19 von demselben Typus antreffen, wo wir aber unter 39 Kulturen aus dem Dünn- und dem Blinddarm 6 verschiedene Typen vertreten finden. Bei der Mehrzahl der Kälber ist jedoch ein Typus in entschiedener Mehrzahl vorhanden; daneben kommt jedoch eine geringe Anzahl Bakterien von einem oder mehreren der anderen Typen vor.

Tabelle II.

Kalb No.	Darm-abschnitt	Anzahl isolierter Kulturen insgesamt	Anzahl Kulturen des Vergärungstypus												
			A I	A II	A III	A IV	A V	A VI	B I	B II	B III	B IV	B V	B VI	Abwei-chend
Kalb I	Dünndarm	50	.	.	.	45	.	.	.	.	.	4	.	.	1
	Coecum	25	.	.	.	10	.	1	.	.	.	14			
	Colon	25	.	.	.	13	.	.	.	.	.	11	.	1	
Kalb II	Dünndarm	50	.	.	.	.	.	.	.	.	.	50			
	Coecum	25	3	.	.	.	.	.	.	.	.	22			
	Colon	25	11	.	.	.	.	.	.	.	.	14			
Kalb III	Dünndarm	50	3	.	5	.	.	.	.	.	.	42			
	Coecum	25	.	1	.	.	.	.	.	.	.	24			
	Colon	25	.	.	.	.	.	.	.	.	.	25			
Kalb IV	Faeces	26	.	.	.	.	.	.	1	4	.	.	26		
Kalb V	Dünndarm	50	.	50											
	Coecum	25	.	25											
	Colon	25	.	25											
Kalb VI	Dünndarm	50	.	11	2	.	.	37							
	Coecum	25	.	21	.	.	.	4							
	Colon	25	.	20	1	.	.	4							
Kalb VII	Dünndarm	50	1	48	.	.	.	1							
	Coecum	25	.	24	.	1									
	Colon	25	1	22	.	1	.	1							
Kalb VIII	Dünndarm	25	1	.	.	18	.	.	3	.	.	3			
	Colon	25	.	.	.	12	.	.	.	.	.	13			
Kalb X	Dünndarm	40	10	.	.	24	.	.	.	.	.	6			
	Coecum	25	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	25	
	Colon	35	.	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.	32	1
Kalb XI	Dünndarm	50	19	.	.	.	.	.	31	.	.				
	Coecum	25	15	.	.	.	.	.	4	.	.	6			
	Colon	25	16	.	.	.	.	1	3	.	.	5			
Kalb XII	Dünndarm	50	49	.	.	1									
	Coecum	25	23	.	.	1									
	Colon	25	23	.	.	1									
Kalb XIII	Dünndarm	50	5	.	.	41	.	.	4						
	Coecum	25	5	.	14	3	.	.	1	.	.	.	.	.	2
	Colon	25	10	.	1	11	.	.	.	.	.	.	.	.	3
Kalb XIV	Dünndarm	50	3	.	.	.	.	.	.	.	.	47			
	Coecum	25	17	.	.	3	.	.	.	.	.	5			
	Colon	25	22	.	.	3									
Kalb XV	Dünndarm	50	46	.	.	2	.	.	.	.	.	1	.	1	
	Coecum	25	22	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	2	
	Colon	25	22	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	2	
Kalb XVI	Labmagen	17	1	.	1	11	.	1	1	.	.	.	.	2	
	Dünndarm	20	.	.	.	3	.	.	.	.	15	.	1	.	1
	Coecum	20	.	.	.	18	.	.	.	.	.	1	.	.	1
Kalb XVII	Labmagen	20	.	6	.	1	.	.	.	.	12	1			
	Dünndarm	20	.	.	.	.	.	.	.	.	19	.	.	.	1
	Coecum	20	2	.	.	1	.	.	.	.	13	.	.	2	2
Kalb XVIII	Labmagen	20	2	3	.	.	.	.	.	.	15				
	Dünndarm	20	.	2	.	.	.	.	.	.	18				
	Coecum	20	1	.	.	1	.	.	.	1	3	8	.	5	1
Kalb XIX	Labmagen	20	14	.	.	.	6								
	Dünndarm	20	20												
	Coecum	20	11	1	1	3	.	.	.	2	.	1	.	1	

Kalb No.	Darmabschnitt	Anzahl isolierter Kulturen insgesamt	Anzahl Kulturen des Vergärungstypus												
			A I	A II	A III	A IV	A V	A VI	B I	B II	B III	B IV	B V	B VI	Abweichend
Kalb XX	Labmagen	20	1	.	.	19									
	Dünndarm	19	.	.	3	7	.	.	.	.	.	7	.	1	1
	Coecum	20	.	.	.	9	.	.	.	.	.	5	3	3	
Kalb XXI	Labmagen	20	1	.	.	16	.	.	3						
	Dünndarm	20	2	.	.	12	.	.	5	.	.	.	1		
	Coecum	20	20												
Kalb XXII	Labmagen	20	.	.	.	12	.	.	.	.	.	.	8		
	Dünndarm	20	.	.	.	15	.	.	.	.	.	.	5		
	Coecum	20	2	.	.	10	.	.	2	.	.	.	6		
Kalb XXIII	Dünndarm	30	2	.	.	5	1	.	1	.	.	12	9		
	Coecum	29	.	.	.	17	2	.	.	.	.	4	6		
Kalb XXIV	Dünndarm	25	1	.	.	4	.	4	.	.	.	.	.	15	1
	Coecum	25	5	.	.	1	.	1	.	.	.	.	.	17	1
Kalb XXV	Labmagen	20	18	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	1	
	Dünndarm	19	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	17	
	Coecum	20	9	.	.	.	.	.	.	.	.	1	1	9	
Kalb XXVI	Dünndarm	10	.	.	.	.	.	1	2	1	.	4	1	1	
	Coecum	10	.	.	.	.	.	.	2	.	.	4	3	1	
	Colon	10	2	.	.	.	.	.	1	.	.	3	1	3	
Kalb XXVII	Dünndarm	9	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	7	1
	Coecum	10	.	.	.	1	.	.	.	.	.	5	.	4	
	Colon	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	5	.	5	
Kalb XXVIII	Dünndarm	48	.	.	.	2	1	.	1	.	.	1	43		
	Coecum	25	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	24		
	Colon	25	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	24		
Kalb XXIX	Dünndarm	23	.	.	.	17	.	.	2	.	.	3	.	.	1
	Coecum	25	1	.	.	24									
	Colon	25	.	.	.	22	.	.	.	.	.	1	.	2	
Kalb XXX	Coecum	3	.	.	.	3									
	Colon	5	1	.	.	4									
Kalb XXXI	Dündarm	58	.	.	.	58									
Kalb XXXII	Dünndarm	50	.	.	.	49	.	.	.	.	.	1			
	Coecum	25	1	.	.	22	.	.	1	.	.	1			
	Colon	25	1	.	.	24									

Am häufigsten treffen wir bei dem einzelnen Kalb denselben Typus in allen Darmabschnitten vorherrschend, so daß wir also sagen müssen, daß in betreff der Art der Coli-Formen — insofern wir uns auf das Gärungsvermögen beschränken — meist kein Unterschied zwischen den verschiedenen Darmabschnitten besteht (in betreff der Quantität der Coli-Bazillen kann, wie wir bereits erwähnt haben, zwischen den verschiedenen Darmabschnitten ein großer Unterschied vorliegen). Dies gilt jedoch keineswegs in allen Fällen; es ist im Gegenteil bei mehreren Kälbern nachgewiesen worden, daß die verschiedenen Darmabschnitte eine ganz verschieden vergärende Coli-Flora enthalten können, so daß wir also bei demselben Kalbe verschiedene vorherrschende Typen antreffen können, indem ein Typus in einem Darmabschnitt, ein anderer Typus in einem anderen Abschnitt vorherrschen kann. Dies ist z. B. der Fall mit Kalb X, wo wir im Dünndarm die Typen A I, A IV und

B IV antreffen, im Coecum aber Reinkulturen von B VI und im Colon so gut wie Reinkulturen desselben Typus (32 von 35 untersuchten Kulturen); nur 2 von den Kulturen aus dem Colon gehörten zu einem der im Dünndarm vorkommenden Typen (A IV). Etwas Aehnliches finden wir bei Kalb XXI; hier ist im Labmagen und Dünndarm Typus A IV vorherrschend, und es finden sich nur bezw. 1 und 2 Kulturen von Typus A I, während wir im Coecum ausschließlich den letztgenannten Typus vorfinden (20 untersuchte Kulturen). Aehnliche Verhältnisse, aber nicht in demselben Grade ausgeprägt, finden wir bei Kalb VI, XIV und XXV.

In dieser Verbindung soll angeführt werden, daß Fischer angibt, daß die aus dem obersten Teile des Verdauungskanals stammenden Coli-Formen ein sehr starkes Gärungsvermögen besitzen, während die aus dem Rectum isolierten nur sehr wenig vergärend sind. Es geht nicht aus seinem Aufsatz hervor, was unter „sehr starkem“ oder „sehr geringem“ Vergärungsvermögen gemeint wird, ob dies eine mehr oder minder weitgehende Zersetzung der einzelnen Zuckerart (z. B. große oder geringe Gasentwicklung) bezeichnet, oder ob es sich um das Vermögen handelt, eine große oder geringe Anzahl verschiedener Stoffe zu spalten. Soweit ersichtlich ist, meint Fischer, daß während der Passage der Coli-Bazillen durch den Verdauungskanal eine Veränderung ihres Gärungsvermögens stattfindet, so daß sie aus sehr stark vergärenden Bazillen im vordersten Abschnitte in sehr schwach vergärende Bazillen im hintersten Abschnitt umgewandelt werden. Einen Unterschied zwischen der Coli-Flora in dem vordersten und in dem hintersten Darmabschnitt, wie den von Fischer angegebenen, habe ich, wie aus dem Vorhergehenden hervorgeht, nicht beobachten können.

Betrachten wir die Coli-Flora bei Kälbern aus demselben Bestande, so können wir in mehreren Fällen eine gewisse Uebereinstimmung nachweisen. So findet sich bei den Kälbern I, II und III, die alle aus demselben Bestande stammen, derselbe Coli-Typus (B IV) in allen Darmabschnitten, und bei 2 von den Kälbern ist dieser Typus durchaus vorherrschend. Bei den Kälbern V, VI und VII, die alle aus einem anderen Bestande stammen, finden wir in derselben Weise den Typus A II in allen Darmabschnitten und durchaus vorherrschend; dieser Typus wurde dagegen bei allen aus anderen Beständen stammenden untersuchten Kälbern nur ganz vereinzelt angetroffen. Auch bei den aus einem dritten Bestande stammenden 6 Kälbern (X—XV) konnten wir einen bestimmten Typus nachweisen: A I, und zwar bei 5 Kälbern in sämtlichen Darmabschnitten, bei dem 6. Kalb (Kalb X) nur im Dünndarm, nicht im Coecum und Colon. Schließlich mag in dieser Verbindung angeführt werden, daß wir bei 3 Kälbern (XVI, XVII und XVIII) aus einem 4. Bestande den mit B III bezeichneten, Aërogenes-ähnlichen Typus antrafen, der bei keinem der aus anderen Beständen stammenden Kälber nachgewiesen wurde.

Ohne aus diesem Befunde Bestimmtes folgern zu wollen, kann man wohl sagen, daß die Befunde darauf deuten, daß sich bei den verschiedenen Kälbern — jedenfalls in einer gewissen Periode — eine recht einheitliche Coli-Flora finden kann, so daß ein Coli-Typus mit einer gewissen Konstanz innerhalb des einzelnen Bestandes auftreten kann.

Sei es, daß wir davon ausgehen, daß die bei demselben Kalb vorkommenden und in derselben Weise vergärenden Coli-Stämme durchaus identische Formen vertreten, oder daß wir von der Frage der voll-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

ständigen Identität absehen, so ist es jedenfalls eine recht überraschende Tatsache, daß wir recht oft sowohl bei jungen als bei älteren Kälbern sozusagen eine Reinkultur eines Coli-Typus entweder überall im Darme oder in einzelnen Abschnitten desselben antreffen können. Am überraschendsten ist es unleugbar, daß dieses Verhältnis bei älteren (ca. 1/2 Jahr alten) Tieren vorkommen kann, wie wir es in 4 Fällen nachwiesen (Kalb XXVIII, XXIX, XXXI und XXXII); denn hier hätte man gerade erwarten können, eine besonders gemischte Flora anzutreffen. Es ist nämlich unzweifelhaft, daß solche Tiere Gelegenheit gehabt haben, viele verschiedene Coli-Formen mit der Nahrung und überhaupt durch ihren Aufenthalt im Stalle aufzunehmen, indem sie hier naturgemäß Faecesteilchen von einer größeren oder geringeren Anzahl der im Stalle befindlichen Tiere aufnehmen müssen. Wenn wir nun auch, wie oben erwähnt, in einigen Beständen eine einzelne Coli-Form als besonders häufig vorkommend bei allen oder fast allen untersuchten Kälbern angetroffen haben, so wird es doch kaum je der Fall sein, daß ausschließlich eine einzelne Coli-Form bei allen oder auch nur bei den meisten Tieren eines Bestandes vorkommt; es wird sich sicherlich in jedem Bestande stets reichliche Gelegenheit zur Aufnahme mehrerer verschiedener Coli-Typen finden. Dies läßt sich sogar mit recht großer Bestimmtheit von den obengenannten 4 Kälbern behaupten, denn diese Tiere haben eben unmittelbar vor der Tötung zu verschiedenen Malen den Aufenthalt gewechselt, sich in verschiedenen Ställen aufgehalten und sind mit vielen verschiedenen Tieren von anderen Orten her in Berührung gekommen. Bei den ganz jungen Kälbern ließ sich das Verhältnis besser erklären, indem sie von einer bestimmten Kuh Milch erhalten haben (Muttermilch), sei es nun, daß sie die Milch direkt von der Kuh oder auch gemolkene Milch erhielten; es war denn auch in einem gewissen Grade wahrscheinlich, daß sie in erster Reihe von der Mutter herstammende Coli-Bazillen aufnehmen würden. Dennoch würde, wie die Verhältnisse in den Ställen nun einmal sind, für sie noch reichliche Gelegenheit vorhanden sein, Coli-Bazillen von anderen im Stalle befindlichen Tieren aufzunehmen.

Was mag nun der Grund sein, daß wir so oft einen einzelnen Typus in vorherrschender Anzahl im Darm antreffen? Eine bestimmte Erklärung läßt sich dafür zurzeit nicht geben, aber wahrscheinlich handelt es sich um besondere Verhältnisse im Darm, die irgendwie einer Form bessere Wachstumsbedingungen gewähren als anderen Formen; möglicherweise spielen hier geringe Veränderungen in der Zusammensetzung oder Alkaleszenz des Inhaltes eine Rolle, so daß z. B. eine bestimmte Reaktion einer Form bessere Wachstumsbedingungen bereitet als anderen Formen, so daß diese Form schnell in überwiegender Mehrzahl auftreten kann. Unwahrscheinlich ist es auch nicht, daß die aufgenommenen Coli-Stämme eine höchst verschiedene Lebensenergie besitzen können, und daß ihr Gärungsvermögen bis zu einem gewissen Grade ein Ausdruck davon sein kann; die am schnellsten wachsende Form werden wir dann in vorherrschender Anzahl antreffen. Schließlich läßt sich auch denken, daß die einzelnen Formen einen gewissen hemmenden Einfluß auf das Wachstum anderer Formen ausüben können, während sie sich selbst ungehindert vermehren und also der Flora ihr Gepräge geben können. Dagegen dürfte — nach allem, was wir von dem Gärungsverhältnis der Coli-Bazillen wissen — die Möglichkeit ganz ausgeschlossen sein, daß die Coli-Bazillen während ihres Wachstums im Darme in ganz bestimmter Weise in betreff ihres Gärungsvermögens sollten „umgeprägt“ werden können, so daß verschieden vergärende Formen allmählich zu einem bestimmten Typus übergehen.

Von welcher der verschiedenen Möglichkeiten — oder ob überhaupt von einer davon — das besprochene Verhältnis herrührt, läßt sich, wie gesagt, nicht sicher entscheiden; höchst wahrscheinlich wird auch nicht einer, sondern mehrere Faktoren eine Rolle spielen können, da wir es sicherlich mit komplizierten Verhältnissen zu tun haben.

Agglutination.

Wenn die Agglutinationsverhältnisse der Coli-Bazillen auch, wie wir es bei den pathogenen Stämmen sahen, so verwickelt und abwechselnd sind, daß wir darauf keine Einteilung begründen können, so kann von denselben doch nicht abgesehen werden, wo es sich um die Identifizierung nahestehender Formen handelt. Es ist jedenfalls notwendig, auch das Agglutinationsverhältnis zu berücksichtigen, wenn wir die Stellung der pathogenen und der bei gesunden Kälbern normaliter vorkommenden Coli-Bazillen zueinander bestimmen und untersuchen sollen, inwieweit wir es mit einer einzelnen oder mit zwei verschiedenen Gruppen zu tun haben; denn in letzterem Falle wäre es doch nicht wahrscheinlich, daß sich eine Uebereinstimmung zwischen ihnen in agglutinatorischer Beziehung würde nachweisen lassen.

Es wurde daher eine Reihe von Seren mit Stämmen hergestellt, die aus gesunden Kälbern isoliert waren. Bei der Auswahl dieser Stämme berücksichtigten wir, wie bei den pathogenen Stämmen, das Gärungsvermögen; im übrigen wurden die Stämme aber willkürlich erwählt. Mit diesen Seren und mit einer Anzahl Seren, die mittels pathogener Formen hergestellt waren, wurden dann Agglutinationsproben gegenüber einer Reihe von pathogenen Coli-Stämmen (Kälberruhrstämmen) sowie solchen Stämmen angestellt, die aus dem Darm gesunder Kälber isoliert waren.

Wie die pathogenen Stämme, zeigten sich auch die aus gesunden Kälbern isolierten Stämme in hohem Grade variierend in betreff ihres Vermögens, die Bildung von agglutinierenden Antistoffen hervorzurufen. Einige Stämme veranlaßten bereits nach wenigen Injektionen eine starke Agglutininerzeugung, während andere, trotz langwieriger Behandlung der Serumtiere, keine nennenswerten Agglutinine hervorzurufen vermochten. In der Regel vertrugen die Serumtiere (Kaninchen) die Injektionen gut — wie es schien, etwas besser als die Behandlung mit den pathogenen Stämmen — namentlich waren Intoxikationsfälle (Abmagerung, Kachexie oder Lahmheiten) infolge der Injektionen selten; dagegen wurde ein paarmal akute, tödlich verlaufende Infektion nach intravenöser Injektion solcher Stämme beobachtet.

Aus den angestellten Untersuchungen geht nun hervor, daß die normaliter vorkommenden Coli-Stämme sowie die pathogenen Stämme in betreff ihrer Agglutinationsverhältnisse unter sich sehr verschieden sind. Sogar Stämme, die in ganz derselben Weise vergären, können von agglutinierenden Seren ganz verschieden beeinflußt werden, und umgekehrt finden sich auch Stämme, die verschieden vergären, aber in agglutinatorischer Beziehung identisch sein können, wie auch ganz identische Stämme (identisch sowohl in betreff des Gärungsvermögens als der Agglutinationsverhältnisse) aus verschiedenen gesunden Kälbern isoliert werden können. Dies war jedoch nur, was zu erwarten war. Ungleich wichtiger war es, daß unter den untersuchten Stämmen aus gesunden Kälbern mehrere in agglutinatorischer Beziehung mit Stämmen vollständig übereinstimmten, die aus Kälberruhrfällen isoliert worden waren.

Es wurden in einer Versuchsreihe 12 pathogene und 2 aus gesunden Kälbern isolierte Stämme untersucht. Aus diesen 14 Stämmen wurden agglutinierende Seren hergestellt, und sämtliche Stämme wurden danach gegenüber allen diesen Seren geprüft. Der eine der beiden aus gesunden Kälbern isolierten Stämme ergab nur ein sehr schwach agglutinierendes Serum, und dieser Stamm wurde auch von keinem der anderen Seren beeinflußt; dagegen wies der andere Stamm eine sehr schöne Uebereinstimmung mit mehreren der pathogenen Stämme auf, teils mit solchen, die er agglutinierte, teils mit anderen. In einer anderen Versuchsreihe wurden in derselben Weise 10 pathogene und 9 aus gesunden Kälbern isolierte Stämme untersucht. Von den letzteren stimmten in betreff des Agglutinationsverhältnisses 2 ganz überein mit einigen der pathogenen Stämme.

Die gefundenen Resultate lassen sich kurz folgendermaßen zusammenfassen: 1) Die im Darme verschiedener gesunder Kälber vorkommenden Coli-Bazillen können, wie die pathogenen Coli-Formen, in betreff der Agglutination unter sich sehr verschieden sein. 2) Im Darme ganz gesunder Kälber können Coli-Formen angetroffen werden, die in agglutinatorischer Beziehung durchaus mit den für Kälber pathogenen Coli-Stämmen identisch sind.

Es dürfte nun von einem gewissen Interesse sein zu untersuchen, wie sich die aus demselben Kalbe isolierten Coli-Stämme in agglutinatorischer Beziehung zueinander verhalten; unter anderem würde man dadurch eine größere Klarheit darüber gewinnen, inwiefern es sich in den Fällen, wo wir in einem Darmabschnitte in gleicher Weise vergärende Stämme finden, tatsächlich um durchaus identische Formen handelt, oder ob sie sich in betreff ihres Agglutinationsverhältnisses als verschieden ergeben; in letzterem Falle müssen wir sie notwendigerweise als nicht durchaus identische Formen betrachten. Es wurde daher eine Reihe agglutinierender Seren hergestellt mittels Stämmen aus verschiedenen Kälbern, und mit diesen Seren wurden darauf in der Weise Agglutinationsversuche angestellt, daß ein Serum gegenüber allen Stämmen geprüft wurde, die von dem Kalbe herrühren, von dem die zur Herstellung des betreffenden Serums benutzte Kultur stammt; so wurde das mit einer Kultur aus Kalb II hergestellte Serum (Serum II) gegenüber allen aus Kalb II isolierten Stämmen geprüft, Serum XXXII gegenüber allen aus Kalb XXXII isolierten Stämmen usw.

Die Resultate dieser Versuche zeigen, daß Stämme, die aus demselben Kalbe isoliert wurden, und die in betreff ihres Gärungsvermögens identisch sind, sich in der Regel auch als in betreff ihres Agglutinationsverhältnisses identisch ergeben; es kommen aber auch Kulturen vor, die sich, trotz ganz übereinstimmender Gärungsverhältnisse, als in agglutinatorischer Beziehung abweichend ergeben, wie man auch Kulturen antreffen kann, die ver-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

schieden vergären, aber doch in betreff der Agglutination übereinstimmen.

So enthält die Tabelle III 93 Kulturen, die alle zu demselben Typus A IV gehören und aus Kalb XXXII (Dünndarm, Coecum und Colon) isoliert worden sind. Sie haben sich sämtlich mit einem aus *einem* der Stämme hergestellten Serum agglutiniert. Mit Ausnahme von 4, werden sie alle in derselben Weise (total 1:5000) agglutiniert; aber die 4 Stämme, welche alle aus dem Coecum isoliert sind, werden, trotzdem sie ganz wie die anderen vergären, gar nicht von Serum XXXII beeinflußt. Von den 9 zu anderen Gärungstypen gehörenden Kulturen, die aus Kalb XXXII isoliert wurden, werden 5 zum Typus A I und 1 zum Typus B I gehörender gar nicht vom Serum XXXII beeinflußt, während 3 andere zum Typus B IV gehörende Stämme in ganz derselben Weise agglutiniert werden wie die 89 A IV-Stämme desselben Serums (A IV-Serum).

Tabelle III.

Aus Kalb XXXII isolierte *Coli*-Stämme		Serum-Stamm XXXII (Typus A IV)			
		1:100	1:500	1:1000	1:5000
Typus A IV	48 Kulturen aus dem Dünndarm	+++	+++	+++	+++
	16 „ „ „ Coecum				
	25 „ „ „ Colon				
	4 „ „ „ Coecum	0	0	0	0
Typus A I	1 Kultur aus dem Dünndarm	0	0	0	0
	3 Kulturen „ „ Coecum				
	1 Kultur „ „ Colon				
Typus B I	1 Kultur aus dem Coecum	0	0	0	0
Typus B IV	1 Kultur aus dem Dünndarm	+++	+++	+++	+++
	1 „ „ „ Coecum				
	1 „ „ „ Colon				

Dieser Fall zeigt — wie eine Reihe von anderen Fällen —, daß sich in der Regel eine Uebereinstimmung des Gärungsvermögens und des Agglutinationsverhältnisses bei *Coli*-Stämmen, die von *demselben Kalbe* stammen, nachweisen läßt. Wir treffen jedoch auch Stämme, die in dieser Beziehung abweichen, die sich also, was das Gärungsvermögen betrifft, *einer* Gruppe anschließen, sich aber in betreff des Agglutinationsverhältnisses ganz anderen Formen anschließen. Wie diese abweichenden Stämme aufzufassen sind, läßt sich sehr schwer entscheiden. In einigen Fällen ist der Unterschied ja nicht sehr durchgreifend. Als Beispiel führen wir die 3 B IV-Stämme aus Kalb XXXII an, die bis zur Titergrenze eines A IV-Serums agglutiniert werden, und die 4 A IV-Stämme aus demselben Kalb, die nicht vom A IV-Serum agglutiniert werden. Der Unterschied zwischen den A IV- und den B IV-Stämmen besteht ja nur darin, daß die A IV-Formen Saccharose vergären, die B-Formen dagegen nicht, und es liegt nun nahe, die vom A-Serum agglutinierten B-Stämme als ursprüngliche A-Stämme zu betrachten, die nur das Vermögen, Saccharose zu vergären, verloren haben, während das Agglutinationsverhältnis unverändert geblieben ist. In derselben Weise könnte man nun die Stämme, die dasselbe Gärungsvermögen, aber ein verschiedenes Agglutinationsverhältnis aufweisen, als ursprünglich identische Stämme auffassen, die nur durch Abänderung ihrer Agglutinabilität verschieden geworden sind. Diese Frage mit

Sicherheit zu entscheiden, ist vorläufig nicht möglich. Wir müssen aber damit rechnen, daß die Coli-Stämme nicht durchaus unveränderlich sind, weder in betreff des Gärungsvermögens, der Agglutination, noch anderer Eigenschaften. Höchst wahrscheinlich entstehen die vielen Varietäten oder Typen unter besonderen, unbekannten Verhältnissen, möglicherweise durch langsame Umwandelung oder vielleicht vielmehr durch Mutation. Mutationsartige Erscheinungen trifft man ja, wie auch früher erwähnt, nicht selten bei den Coli-Bazillen. Wir kennen eine Reihe Fälle solcher Umwandelungen sowohl morphologischer, kultureller als biologischer Eigenschaften, wo indessen die serologischen Verhältnisse (Agglutination) unverändert scheinen, und umgekehrt können wir auch Aenderungen vorfinden, die nur die serologischen Verhältnisse betreffen, während die anderen Eigenschaften ganz unverändert bleiben. So konnten Altmann und Rauth, indem sie Coli-Stämme eine längere Zeit hindurch in Bouillon oder auf Agar züchteten, wozu Karbol oder Arsen gesetzt war, durchgreifende Veränderungen der Agglutinationsverhältnisse der betreffenden Bakterien hervorrufen, während die Bakterien sich in morphologischer und kultureller Beziehung nicht veränderten.

Indessen haben wir ja bei mehreren Kälbern nachweisen können, daß dieselbe Einheitlichkeit, die sich bei der Untersuchung des Gärungsvermögens der aus demselben Kalbe isolierten Coli-Stämme geltend macht, auch zum Vorschein kommt, wenn wir die Agglutinationsverhältnisse der Stämme betrachten; die allermeisten der aus demselben Kalbe isolierten Stämme ergeben sich oft als in agglutinatorischer Beziehung identisch. Ein ganz ähnliches Verhältnis scheint sich beim Menschen geltend zu machen, indem man, wie dies namentlich von Escherich und seinen Schülern nachgewiesen wurde, bei Brustkindern gewöhnlich eine in agglutinatorischer Beziehung ganz einheitliche Coli-Flora in den Faeces vorfindet. So fand Henry Lee Smith, der mit 6-tägigem Zwischenraum 4 Faecesproben von einem Kindlein (4 Wochen alt) untersuchte, daß die vorhandenen Coli-Bazillen, wovon jedesmal 8—19 Kulturen untersucht wurden, sich in agglutinatorischer Beziehung einem mit einer der Kulturen hergestellten Serum gegenüber identisch verhielten. Nur in der zuletzt untersuchten Faecesprobe, die entnommen wurde, nachdem das Kind angefangen hatte, künstliche Nahrung zu erhalten, fanden sich zwei Coli-Stämme, die nicht von dem genannten Serum beeinflußt wurden, während 11 andere Stämme ganz wie die in früheren Faecesproben gefundenen agglutiniert wurden. Mit demselben Serum wurden ferner Agglutinationsversuche gegenüber einer Reihe von Coli-Stämmen angestellt, die aus anderen kleinen Kindern isoliert worden waren, jedoch stets mit negativem Resultat: keiner dieser Stämme wurde von dem betreffenden Serum agglutiniert.

Auf Grund dieses Versuches und ähnlicher Versuche vertritt Escherich mit großer Bestimmtheit die Anschauung, daß die Coli-Bazillen jedenfalls in betreff ihrer Agglutinationsverhältnisse durch das Individuum geprägt werden, bei dem sie sich aufhalten. Dies drückt er in folgender Weise aus:

„Die im Darm vorhandenen Coli-Bazillen sind doch zweifellos Abkömmlinge von Bazillen, welche, als sie in den Darmtrakt eingeführt wurden, diese Eigenschaft nicht besaßen. Sie haben also während und durch den Aufenthalt im Darmkanal dieses Individuums die Fähigkeit erworben, durch das in obiger Weise hergestellte Immunserum elektiv agglutiniert zu werden. Diese Eigenschaft teilen sie nur mit denjenigen typischen Coli-Bazillen, welche aus dem Darmkanal desselben Individuums stammen, während die aus anderen Stühlen gezüchteten Coli-Bazillen diese Reaktion nicht oder doch nur in sehr viel schwächerem Grade zeigen. Es liegt also hier eine an die Entwickelung im Darmkanale einer bestimmten Person gebundene Eigenschaft vor, die ich deshalb als Individualreaktion bezeichne. Dieselbe bleibt auch bei der Weiterzüchtung auf künstlichen Nährböden durch längere Zeit nachweisbar."

Die Escherichsche Theorie, daß die Coli-Bazillen, die in den Darmkanal hineingelangen, in einer bestimmten Weise umgeprägt werden, die von dem Individuum abhängt, in dessen Darmkanal sie sich aufhalten, wird nicht bestätigt durch die Agglutinationsversuche, die wir mit den bei jungen Kälbern vorkommenden Coli-Bazillen anstellten, und die wir oben besprochen haben. Das von Escherich so kräftig hervorgehobene individuelle oder „persönliche" Gepräge, das sich dadurch kundgeben sollte, daß alle Coli-Bazillen — oder jedenfalls bei weitem die überwiegende Anzahl — bei einem bestimmten Individuum in agglutinatorischer Beziehung übereinstimmen, aber von allen Coli-Bazillen anderer Herkunft abweichen, trifft jedenfalls für die Kälber nicht zu. So fanden sich bzw. 3 und 2 Kälber, deren Coli-Flora in agglutinatorischer Beziehung durchaus übereinstimmte. Allerdings stammten die 3 Kälber aus einem und die 2 Kälber aus einem anderen Bestande; aber dieses Verhältnis sollte doch kaum irgendwelchen Einfluß erhalten können, da ja nach Escherich das Individuum den Bakterien ihr Sondergepräge mitteilen sollte. Ferner finden wir auch, daß Coli-Bazillen von Kälbern aus ganz verschiedenen Beständen in betreff der Agglutination identisch sein können; so haben wir eine Reihe Beispiele davon angetroffen, daß pathogene Coli-Bazillen und normaliter vorkommende Darm-Coli in der genannten Beziehung übereinstimmen können, und schließlich können wir bei demselben Kalbe mehrere agglutinatorisch verschiedene Coli-Typen finden, von denen allenfalls einige in numerischer Beziehung ungefähr gleichmäßig vertreten sind; hier werden wir also von keiner „persönlichen" Coli-Rasse reden können.

Der Grund davon, daß wir bei einigen Kälbern eine in agglutinatorischer Beziehung ganz einheitliche Coli-Flora im Darme vorfinden können, läßt sich somit kaum einfach in einer bestimmten Umwandlung der biologischen Eigenschaften ursprünglich verschiedenartiger Coli-Bakterien suchen. Vielmehr muß man annehmen, daß verschiedene Verhältnisse physikalischer oder chemischer Natur im Darme und Darminhalt bedingen können, daß eine Form bessere Lebensbedingungen vorfindet als andere, und auf diese Weise veranlassen können, daß diese eine Form das Uebergewicht erhält und der Coli-Flora ihr Gepräge mitteilt. Damit soll indessen nicht gesagt sein, daß wir die Agglutinationsverhältnisse der Coli-Bazillen — oder die biologischen Eigenschaften überhaupt — als etwas durchaus Konstantes betrachten; im Gegenteil werden, wie bereits oben bemerkt, diese Eigenschaften auch unter natürlichen Verhältnissen sicherlich Veränderungen (z. B. durch Mutation) unterworfen sein können. Wir haben nur auf Grund der Resultate, zu denen wir bei der Untersuchung der Coli-Flora im Darme junger Kälber gelangten, darauf hindeuten wollen, daß sich die Verhältnisse kaum so einfach erklären lassen, wie Escherich und seine Schule dies getan hat. Uebrigens bedarf die ganze, hier behandelte Frage einer weit eingehenderen experimentellen Untersuchung, als ihr bisher zuteil geworden ist.

Was die Komplementbindungsreaktion betrifft, so verhalten sich die aus gesunden Kälbern stammenden Coli-Formen in ganz entsprechender Weise wie die Kälberruhrstämme — nur dem homologen Serum gegenüber war es möglich, eine spezifische Reaktion nachzuweisen, und die Methode ist somit von keinem Interesse bei den hier in Frage stehenden vergleichenden Untersuchungen.

Immunitätsversuche.

Im Vorhergehenden sahen wir also, daß die für Kälber pathogenen und die normaliter vorkommenden Coli-Bazillen, trotz ihrer großen Variation, im großen ganzen doch als gut übereinstimmend in betreff ihrer kulturellen und biologischen Eigenschaften bezeichnet werden können. Es erübrigt nun, zu untersuchen, ob diese Uebereinstimmung sich auch auf die Immunitätsverhältnisse der Bakterien erstreckt. Die von uns darüber angestellten Untersuchungen umfassen nur die Verhältnisse bei der passiven Immunität; wir haben, mit anderen Worten, untersucht, inwiefern ein mit pathogenen Formen hergestelltes Serum gegen Infektion mit Formen aus gesunden Kälbern schützt, und umgekehrt, ob ein mittels letzterer Formen hergestelltes Serum gegen Infektion durch kälberpathogene Stämme schützt. Erst wollen wir indessen das in der Literatur über die Immunitätsverhältnisse der Coli-Bazillen Vorliegende kurz besprechen.

Die früher darüber angestellten Versuche beschäftigten sich nur mit den pathogenen Formen. Die ersten und grundlegenden Versuche hierüber verdanken wir C. O. Jensen, der nachwies, daß man, indem man einem Tier (Pferd) einen Coli-Stamm injiziert, recht leicht ein Serum herstellen konnte, welches Meerschweinchen gegen Infektion durch den betreffenden Stamm sowie durch mehrere andere Stämme schützte, das sich aber andererseits als ganz unwirksam gegenüber anderen Stämmen zeigte. Auf dieser Grundlage arbeitete C. O. Jensen seine Serumbehandlung der Kälberruhr (polyvalentes Coli-Serum) aus.

Joest gibt an, daß es ihm durch Injektion von Coli-Bazillen an Kaninchen ziemlich leicht gelang, ein schützendes Serum herzustellen; aber er behauptet — allerdings auf Grund eines augenscheinlich geringen Materials — daß ein Coli-Serum nur gegen den homologen Stamm schützt, während es anderen Stämmen gegenüber ohne Wirkung ist.

Neumann prüfte 4 Coli-Seren gegenüber den entsprechenden Stämmen; auch er kam zu dem Resultat, daß ein Coli-Serum nur gegen Infektion mit dem homologen Stamm zu schützen vermag, während es anderen Stämmen gegenüber kein schützendes Vermögen besitzt.

Zu dem direkt entgegengesetzten Resultat kam Grosso. Er fand, daß ein Coli-Serum, außer gegen den homologen Stamm zu schützen, zugleich gegen andere Stämme schützt, die z. B. in betreff ihres Gärungsverhältnisses abweichen, und er scheint zu meinen, daß es sich stets so verhalten wird, so daß man von keinen verschiedenen Coli-Seren (oder von „Polyvalenz") reden kann, daß aber die verschiedenen Coli-Stämme in immunisatorischer Beziehung tatsächlich identisch sind.

Zu den von uns angestellten und im Folgenden zu besprechenden Versuchen wurde ein Teil von den zu den Agglutinationsversuchen angewandten Seren benutzt; die allermeisten dieser Seren wurden also an

Kaninchen hergestellt; die Immunitätsversuche selbst fanden an weißen Mäusen statt. Die oben erwähnten Verfasser wandten alle Meerschweinchen als Versuchstiere an; nur Neumann hat zu einigen seiner Versuchsreihen auch weiße Mäuse verwendet, die er jedoch als zu diesen Versuchen ungeeignet betrachtet, da sie sich als individuell sehr verschieden empfänglich gegenüber Infektion mit seinen Stämmen ergaben. Wie aus dem Folgenden hervorgeht, waren weiße Mäuse zu den von uns angestellten Versuchen sehr anwendbar.

Da es sich in erster Reihe darum handelte, für diese Immunitätsversuche über Coli-Stämme zu verfügen, die gegenüber Mäusen sicher pathogen waren, wurde erst eine Anzahl teils pathogener und teils von gesunden Kälbern herrührender Stämme auf ihre Virulenz gegenüber Mäusen hin geprüft. Es wurden dazu frische (18—20 Stunden alte) Bouillonkulturen angewandt, wovon 0,1—0,05 ccm intraperitoneal injiziert wurde. Im ganzen wurden in der Weise 12 pathogene Stämme und 19 Stämme geprüft, die von 6 gesunden Kälbern herrührten, welche aus drei verschiedenen Beständen stammten. Es zeigte sich, daß die allermeisten der geprüften Stämme beider Gruppen bei der genannten Gabe für Mäuse nicht virulent waren. Nur 5 der aus gesunden Kälbern isolierten und 4 Kälberruhrstämme waren imstande, bei den genannten Gaben Mäuse zu töten. Es wurde sodann versucht, die Virulenz dieser Stämme für Mäuse durch wiederholte Mäusepassagen noch zu steigern. Die meisten von ihnen verhielten sich indessen recht inkonstant, und es gelang nicht, ihnen eine höhere Virulenz beizubringen. So war 0,04 ccm Kultur, intraperitoneal injiziert, nicht einmal immer eine absolut tödliche Gabe. Nur 4 Stämme — 2 Stämme aus gesunden Kälbern und 2 Kälberruhrstämme — gelang es, so virulent für Mäuse zu machen, daß 0,01 ccm Kultur, intraperitoneal injiziert, absolut tödlich wirkte.

Wenn es auch keine sehr große Anzahl von Stämmen ist, die in betreff ihrer Virulenz gegenüber Mäusen untersucht worden sind, so zeigen die vorliegenden Resultate doch, daß in der genannten Beziehung kein nennenswerter Unterschied zwischen den für Kälber pathogenen und den normaliter vorkommenden Coli-Bazillen besteht. Ich kann mich hier ganz Joest anschließen, der bei Versuchen an kleinen Versuchstieren eine vollständige Uebereinstimmung zwischen den pathogenen Eigenschaften der Kälberruhrbazillen und der normaliter vorkommenden Bazillen nachwies. Nur gegenüber Kaninchen haben wir — wie oben berührt — bei wiederholten Injektionen (Herstellung aus Immunseren) einen gewissen Unterschied der Beeinflussung der beiden Gruppen beobachten können, indem die pathogenen Coli-Formen häufiger, als die anderen, chronische Intoxikationserscheinungen (Abmagerung, Kachexie, Lahmheit) verursachen.

Mit den 4 oben erwähnten, für Mäuse virulenten Stämmen wurde eine Reihe von Immunisierungsversuchen in Gemeinschaft mit verschiedenen, mit Coli-Bazillen aus gesunden Kälbern und mit Kälberruhrstämmen hergestellten Seren unternommen. Diese Versuche wurden in der Weise angestellt, daß das betreffende Serum Mäusen eines bestimmten Gewichtes (15—20 g) intraperitoneal injiziert wurde und nach 8—9 Stunden die zu untersuchende Kultur gleichfalls intraperitoneal injiziert wurde. Da diese Versuche nur bezweckten, festzustellen, inwiefern sich überhaupt eine Uebereinstimmung zwischen den normaliter vorkommenden und den pathogenen Coli-Formen nachweisen ließ, wurden in der Regel nur recht große Serumgaben benutzt; von einer näheren Austitrierung oder Messung des Gehaltes an Antistoffen wurde abgesehen. Als Infektionsgabe wurde bei allen diesen Versuchen eine der doppelten oder vierfachen, tödlichen Gabe entsprechende Kultur benutzt. Da diese sich bei allen 4 Stämmen konstant um 0,01 und 0,02 hielt, wurde in der Regel 0,04 bis 0,05 ccm angewandt.

Die Resultate dieser Versuche haben nun gezeigt, daß sowohl unter den aus gesunden Kälbern isolierten Stämmen als unter den für Kälber pathogenen Stämmen in immunisatorischer Beziehung verschiedene Formen vorkommen, indem nur die wenigsten der untersuchten Seren eine immunisierende Wirkung gegenüber den untersuchten Stämmen aufweisen; die Versuche zeigen aber ferner, daß einige für Kälber pathogene und normaliter vorkommende Coli-Formen sich auch in betreff ihrer Immunitätsverhältnisse voneinander unterscheiden lassen; denn wir finden, daß gewisse Kälberruhrseren schützend gegenüber Infektion mit normaliter vorkommenden Coli-Stämmen wirken, und umgekehrt, daß mit solchen Formen hergestellte Seren gegenüber Infektion mit typischen Kälberruhrstämmen schützen können.

Die 4 zu diesen Versuchen benutzten Stämme waren teilweise verschieden in betreff des Gärungsvermögens. Von den beiden Stämmen aus gesunden Kälbern gehört der eine (Stamm Kalb XIX, Dünndarm 1) zu Typus A I, während der andere (Stamm Kalb XXIII, Dünndarm 7) zu Typus A IV gehört. Die beiden Kälberruhrstämme gehören bzw. zu Typus A IV (Stamm 898) und Typus B I (Stamm 1119). Gegenüber jedem dieser Stämme wurde nun in der oben besprochenen Weise die immunisierende Wirkung einer Reihe von Seren untersucht, die mit verschiedenen pathogenen und normaliter vorkommenden Coli-Stämmen hergestellt waren. Von diesen Versuchen finden sich mehrere unten:

So sind in der Tabelle IV die mit Stamm XIX angestellten Versuche aufgeführt. In Versuch I wurde die Wirkung von 17 Seren untersucht — von denen 12 pathogenen Stämmen entsprechen. Von diesen 12 Seren hatten 7 keine schützende Wirkung gegenüber dem genannten Stamm; bei einem Serum (1236) ist das Resultat etwas unsicher, indem die eine der beiden immunisierten Mäuse starb, während die andere überlebte, und schließlich weisen 4 Seren (989, 1194, 602 und 621) eine deutliche schützende Wirkung gegenüber Stamm XIX auf, indem alle mit diesen Seren behandelten Mäuse gesund blieben.

Von den 5 nichtpathogenen Stämmen entsprechenden Seren besitzen 2 keine und 1 eine unsichere Wirkung, während 2 (XXIII T 7 und das homologe Serum) gegenüber Stamm XIX immunisierend wirken. Außer dem homologen Serum, waren also von den 17 Seren 5 heterologe Seren im Besitze von deutlichen immunisierenden Eigenschaften gegenüber dem genannten Stamm, und von den 5 Seren entsprechen 4 pathogenen Stämmen.

Untersucht man nun, inwiefern zwischen den Immunitätsverhältnissen und anderen der benutzten Identifizierungsmittel, wie Gärungsvermögen und Agglutination, eine Verbindung besteht, so finden wir, daß dieses nicht der Fall ist — oder es nicht zu sein braucht. Wie erwähnt, vergärt Stamm XIX wie Typus A I; 3 von den zu den Immunitätsversuchen angewandten Seren waren A I-Seren (733, 991 und 1377);

Tabelle IV.

Stamm Kalb XIX, Dünndarm 1.

Die angewandten Seren	Serumgabe	Kulturgabe	Anzahl Mäuse	
Versuch I.				
Serum 733	0,05 ccm	0,04 ccm	2	Starben nach 24 Stunden
„ 991	„	„	2	Dgl.
„ 1377	„	„	2	Dgl.
„ 1307	„	„	2	1 starb nach 24 Stunden, 1 starb nach 3 Tagen
„ 599	„	„	2	1 starb nach 24 Stunden, 1 starb nach 3 Tagen
„ 989	„	„	2	Ueberleben
„ 1230	„	„	2	Starben nach 24 Stunden
„ 1236	„	„	2	1 starb nach 24 Stunden, 1 überlebt
„ 1194	„	„	2	Ueberleben
„ 943	„	„	2	Starben nach 24 Stunden
„ 602	„	„	2	Ueberleben
„ 621	„	„	2	„
„ XIX T 1	„	„	3	„
„ XXIII T 1	„	„	2	Starben nach 24 Stunden
„ XXIII T 7	„	„	2	Ueberleben
„ XXIII T 11	„	„	2	1 starb nach 24 Stunden 1 überlebt
„ XXIII B 6	„	„	2	Starben nach 24 Stunden
		0,04 ccm	3	Starben nach 24 Stunden
Versuch II.				
Serum 989	0,05 ccm	0,02 ccm	1	Ueberleben
„	0,025 „	„	1	
„	0,0125 „	„	1	
„	0,006 „	„	1	
Serum 1194	0,05 ccm	0,02 ccm	1	Ueberleben
„	0,025 „	„	1	
„	0,0125 „	„	1	
„	0,006 „	„	1	
Serum XIX T 1	0,05 ccm	0,02 ccm	1	Ueberleben
„	0,025 „	„	1	
„	0,0125 „	„	1	
„	0,006 „	„	1	
		0,02 ccm	1	Starben nach 24 Stunden
		0,01 „	1	
Versuch III.				
Polyval. Coli-A-Serum (Pferd)	0,05 ccm	0,04 ccm	2	Ueberleben
Polyval. Coli-B-Serum (Pferd)	„	„	2	„
Normalserum (Pferd)	„	„	2	Starben nach 24 Stunden
		0,04 ccm	1	Starben nach 24 Stunden
		0,02 „	1	

aber keins von diesen Seren wies die geringste schützende Wirkung gegenüber Stamm XIX auf. Dagegen gehörten die oben erwähnten 5 schützend wirkenden Seren zu ganz anderen Typen. So waren 2 davon A IV-Seren (989 und XXIII T 7 — ein drittes A IV-Serum [1230] hatte dagegen keine Wirkung), 2 waren B VI-Seren (602 und 621) und 1 war ein B I-Serum (1194).

Auch die Agglutination wies keine Uebereinstimmung mit den Immunitätsverhältnissen auf. So wird Stamm XIX stark agglutiniert von Serum 733, 1377 und 599, die in immunisatorischer Beziehung diesem Stamm gegenüber unwirksam sind, während Serum 1194, das Mäuse gegen Infektion mit Stamm XIX beschützt, diesen Stamm nur recht schwach agglutiniert, jedenfalls bedeutend schwächer als die 3 obengenannten Seren. Von den anderen gegen Stamm XIX schützenden Seren agglutinieren Serum 989 und 606 diesen Stamm stark. Während bei Versuch I nur recht große Serumgaben (0,05 ccm) angewandt wurden, kamen bei Versuch II auch geringere Gaben (0,006 ccm) in Anwendung; es wurden hier, außer dem homologen Serum, 2 „pathogene“ Seren (989 und 1194) untersucht. Man sieht, daß diese beiden sich ganz wie das homologe Serum verhalten. Alle 3 Seren schützen in Gaben bis zu 0,006 ccm Mäuse vollständig gegen eine Infektion mit der doppelten tödlichen Gabe von Stamm XIX.

Tabelle V.
Stamm Kalb XXIII, Dünndarm 7.

Die angewandten Seren	Serumgabe	Kulturgabe	Anzahl Mäuse	
		Versuch I.		
Serum 733	0,05 ccm	0,04 ccm	2	1 starb nach 24 Stunden, 1 überlebt
„ 991	„	„	2	Starben nach 24 Stunden
„ 1377	„	„	2	Dgl.
„ 1307	„	„	2	„
„ 599	„	„	2	„
„ 1230	„	„	2	„
„ 1236	„	„	2	1 starb nach 24 Stunden, 1 überlebt
„ 943	„	„	2	Starben nach 24 Stunden
„ 621	„	„	2	Dgl.
„ 989	„	„	2	„
„ 1194	„	„	2	„
Polyvalentes Coli B-Serum (Pferd)	„	„	2	Ueberleben
Serum XIX T 1	„	„	4	Alle starben nach 24 Std.
„ XXI T 1	„	„	4	Ueberleben
„ XXIII T 1	„	„	2	2 starben nach 24 Stunden, 2 überleben
„ XXIII T 11	„	„	2	Starben nach 24 Stunden
„ XXIII B 6	„	„	2	Dgl.
„ XXIII T 7	„	„	2	Ueberleben
		0,04 ccm	2	Alle starben nach 24 Std.
		0,02 „	3	
		0,01 „	1	
		Versuch II.		
Polyvalentes Coli B-Serum (Pferd)	0,05 ccm	0,04 ccm	2	Alle überleben
	„	0,02 „	2	
	0,02 ccm	0,04 „	2	
	„	0,02 „	2	
	0,01 ccm	0,04 „	2	
	„	0,02 „	2	
Normales Serum (Pferd)	0,05 ccm	0,02 „	2	Starben nach 24 Stunden
		0,02 „	2	Alle starben nach 24 Std.
		0,01 „	2	

In Versuch III wurden schließlich ein paar polyvalente Coli-Seren gegenüber dem genannten Stamm untersucht. Die beiden Seren wurden mittels typischer Kälberruhrstämme an einem Pferd hergestellt, das eine ausschließlich mit Coli A-Stämmen (Saccharose vergärend), das andere mit Coli B-Stämmen (nicht Saccharose vergärend). Wie man sieht, schützen die beiden Seren gegen Stamm XIX, während normales Pferdeserum ohne Wirkung ist.

Tabelle V enthält die mit Stamm XXIII T 7 ausgeführten Versuche. Bei Versuch I wurden, außer dem homologen Serum, 17 verschiedene Seren gegenüber dem genannten Stamm geprüft. Die angewandten Stämme sind größtenteils dieselben wie in Tabelle IV (Versuch I); man sieht aber, daß sie sich Stamm XXIII gegenüber in anderer Weise verhalten als gegenüber Stamm XIX. Während 4 von den 12 Stämmen, welche pathogenen Seren entsprechen, letzteren gegenüber schützend wirkten, vermag keiner von ihnen sicher gegenüber Stamm XXIII zu schützen; nur 2 davon (733 und 1236) ergeben unsichere Resultate, indem 1 von den Mäusen überlebte. Das polyvalente Coli B-Serum, das auch ausschließlich mit kälberpathogenen Stämmen hergestellt wurde, schützt dagegen gegen Stamm XXIII.

Von den 6 mit Stämmen aus dem Darm gesunder Kälber hergestellten Coli-Seren wirken 2, nämlich das homologe Serum und Serum XXI, schützend gegen Stamm XXIII T 7, 3 haben keine und 1 (XXIII T 1) eine unvollständige Wirkung.

Wie man sieht, sind 4 von diesen Seren mit verschiedenen Stämmen aus demselben Kalbe (XXIII) hergestellt. Die 4 Stämme sind verschieden in betreff ihres Gärungsvermögens und ihrer Agglutinationsverhältnisse, und, wie aus Tabelle V hervorgeht, sind sie auch in immunisatorischer Beziehung verschieden.

Versuch II (Tabelle V) zeigt endlich die Wirkung des polyvalenten Coli B-Serums in kleineren Gaben (0,01 ccm); wie man sieht, vermag dieses Serum auch in diesen Gaben keinen absoluten Schutz gegen Infektion mit der 4-fachen tödlichen Gabe von Stamm XXIII T 7 zu gewähren.

Fassen wir nun die Resultate der mit den beiden aus gesunden Kälbern stammenden Kulturen XIX und XXIII T 7 angestellten Immunitätsversuche zusammen, so finden wir also, daß mehrere der untersuchten Seren, sowohl solche, die mit pathogenen Stämmen hergestellt wurden, als solche, die mit Stämmen aus gesunden Kälbern hergestellt wurden, eine deutliche immunisierende Wirkung gegenüber den beiden genannten Kulturen aufweisen.

Tabelle VI enthält schließlich einige Versuche mit 2 pathogenen Coli-Stämmen, gegenüber welchen die immunisierende Wirkung mehrerer der obengenannten Seren geprüft wurde. Die Resultate davon entsprechen ganz denjenigen, die wir in den Versuchen mit den beiden obenbesprochenen Stämmen erzielten.

So sehen wir, daß 3 mit Coli-Stämmen aus gesunden Kälbern hergestellte Seren (Serum XIX, XXI und XXIII T 7) Mäuse gegen Infektion mit dem kälberpathogenen Stamm 989 schützen, und daß 3 Seren — außer dem homologen Serum — welche pathogenen Stämmen (Serum 1377, 599 und 1194) entsprechen, sich in derselben Weise verhielten.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle VI.

Die angewandten Seren	Serumgabe	Kulturgabe	Anzahl Mäuse	
		Stamm 989.		
Serum XIX T 1	0,05 ccm	0,04 ccm	2	Ueberleben
„ XXI T 1	"	"	2	Ueberleben
„ XXIII T 1	"	"	2	1 starb nach 24 Stunden, 1 überlebt
„ XXIII T 7	"	"	2	Ueberleben
„ XXIV T 1	"	"	2	Starben nach 24 Stunden
„ 991	"	"	2	Starben nach 24 Stunden
„ 1377	"	"	2	Ueberleben
„ 599	"	"	2	Ueberleben
„ 1230	"	"	2	1 starb nach 24 Stunden, 1 starb nach 36 Stunden
„ 1194	"	"	2	Ueberleben
„ 989	"	"	2	Ueberleben
		0,04 ccm	3	2 starben nach 24 Stunden, 1 starb nach 36 Stunden
		Stamm 1194.		
Serum XIX T 1	0,05 ccm	0,04 ccm	4	Ueberleben
„ XXIV T 1	"	"	2	Starben nach 24 Stunden
„ 991	"	"	2	Starben nach 24 Stunden
„ 1377	"	"	2	Ueberleben
„ 1307	"	"	2	Starben nach 24 Stunden
„ 599	"	"	2	1 starb nach 24 Stunden, 1 überlebt
„ 1194	"	"	5	Ueberleben
		0,04 ccm	3	Starben nach 24 Stunden
		0,02 „	2	

In der Tabelle VI wurden ferner mehrere Seren gegenüber Stamm 1194 geprüft. Wir sehen hier, daß Serum XIX und 1377, sowie das homologe Serum gegen Infektion mit diesem Stamm schützen. Stamm 1194 vergärt wie Typus B I; Serum XIX und 1377 sind beide A I-Seren, und in betreff der Agglutination wird Stamm 1194 von diesen beiden Seren nur sehr schwach beeinflußt.

Aus den Resultaten der mit den beiden kälberpathogenen Kulturen 989 und 1194 angestellten Versuche geht also hervor, daß sowohl mit Coli-Stämmen aus gesunden Kälbern als auch mit kälberpathogenen Stämmen hergestellte Seren imstande sind, Mäuse gegen Infektion mit den beiden genannten Kulturen zu schützen.

Die Hauptergebnisse der Immunisierungsversuche lassen sich danach folgendermaßen zusammenfassen: 1) Im Darme gesunder Spankälber kommen Coli-Stämme vor, die für Mäuse pathogen sind. 2) Gegenüber Infektion mit solchen Stämmen kann man Mäuse durch Seren schützen, die mit kälberpathogenen Coli-Stämmen hergestellt sind. 3) Gegenüber Infektion mit kälberpathogenen Stämmen kann man Mäuse durch Seren schützen, die mit Coli-Stämmen aus dem Darme ganz gesunder Kälber hergestellt sind. Hiernach ist man berechtigt zu sagen, daß es auch nicht mittels des Immunitätsverhältnisses möglich ist, die für Kälber pathogenen und die im Darme gesunder Kälber normaliter vorkommenden Coli-Formen voneinander zu unterscheiden.

Fassen wir nun die Resultate aller im Vorhergehenden besprochenen Untersuchungen zusammen, so sehen wir, daß sowohl die pathogenen als auch die normaliter vorkommenden Coli-Bazillen je für sich in betreff der biologischen Eigenschaften sehr variieren können, so daß wir ebensogut von einem virulenten Coli-Bazillus als von einer normaliter im Darme vorkommenden Form reden können. Zu beiden genannten Kategorien gehört vielmehr eine Reihe von Varietäten, die in einem oder mehreren Punkten voneinander abweichen. Es geht aber auch deutlich aus den Untersuchungen hervor, daß die pathogenen und die normaliter vorkommenden Formen sich nicht auf Grund der morphologischen, kulturellen und biologischen Eigenschaften, die wir untersucht haben, in 2 gesonderte Gruppen einreihen lassen, denn wir finden, eben mit Ausnahme der Pathogenität gegenüber Kälbern, kein Charakteristikum, das als gemeinsam für die pathogenen Formen bezeichnet werden kann, im Gegensatz zu denjenigen, die wir normaliter bei gesunden Kälbern vorfinden. Es gebricht uns somit ganz an Mitteln, zu entscheiden, inwiefern ein vorliegender Coli-Stamm eine pathogene Form oder ein harmloses Darmmikrob ist, vorausgesetzt, daß wir seine Wirkung gegenüber jungen Kälbern nicht direkt untersuchen.

In betreff der morphologischen und kulturellen Eigenschaften sowie des Gärungsvermögens fanden wir eine vollständige Uebereinstimmung zwischen pathogenen und normaliter vorkommenden Coli-Stämmen, und auch was die Agglutinations- und Immunitätsverhältnisse betrifft, fanden wir bei einer Reihe von diesen Formen genaue Uebereinstimmung. Das einzig Natürliche wäre also, wie C. O. Jensen dies von Anfang an getan hat, die pathogenen Coli-Bazillen als gewöhnliche Darmbakterien zu betrachten, die unter besonderen Verhältnissen einen gewissen Grad von Virulenz erworben haben. Eine Virulenzsteigerung dieser Art hat, wie in der Einleitung erwähnt, C. O. Jensen auf experimentellem Wege hervorrufen können, indem er neugeborenen Kälbern Reizstoffe (verschiedene Desinfektionsmittel, gekochte Milch) eingab.

Wenn die von uns angestellten Untersuchungen auch durchaus die von C. O. Jensen ausgesprochenen Ansichten von der Stellung der für Kälber pathogenen Coli-Bazillen zu den im Darme junger Kälber normaliter vorkommenden Coli-Formen bestätigen, so dürfte doch vielleicht Grund vorhanden sein, die soeben genannten, von C. O. Jensen vor ca. 20 Jahren angestellten Verfütterungsversuche (mit Reizstoffen) an jungen Kälbern zu wiederholen. Mit den Identifizierungsmitteln, über die wir jetzt verfügen (Gärungs-, Agglutinations- und Immunitätsversuche), wird man mit recht großer Sicherheit einen bestimmten Coli-Stamm identifizieren können. Man wird hierdurch bei angemessener Versuchsanordnung entscheiden können, ob die nach Eingabe der genannten Stoffe auftretenden Coli-Bazillen wirklich mit den vor der Eingabe im Darme vorhandenen Formen identisch sind. Es wäre dann notwendig, letztere genau zu kennen oder vielmehr dafür Sorge zu tragen, daß nur eine Coli-Form vorhanden ist. Das wird man erreichen können, wenn man neugeborenen Kälbern eine an und für sich unschädliche, aus einem gesunden Kalbe stammende, Coli-Kultur eingibt, deren verschiedene Eigenschaften genau untersucht und bekannt sind, und gleichzeitig verhindert, daß eine spontane Aufnahme anderer Coli-Formen stattfindet. Letzteres ganz auszuschließen, wäre allerdings, theoretisch betrachtet, eine recht schwierige Sache, aber man würde doch durch verschiedene Vorkehrungen teils während und teils nach der Geburt des Kalbes viel in dieser Beziehung leisten können. So gelingt es nach ausführlichen, von Poels angestellten Versuchen leicht, die hintersten Geburtswege der Kuh ganz zu sterilisieren. So wird man verhindern können, daß das Kalb während seiner Passage durch die hintersten Geburtswege Coli-Bazillen aufnimmt, wenn man diese Wege unmittelbar vor der Geburt sorgfältig sterilisiert. Durch angemessene Vorkehrungen während des Geburtsaktes selbst wird man ferner eine Infektion des Kalbes verhüten können, und schließlich wird man, wenn man dem Kalbe augenblicklich nach der Geburt einen dichtschließenden Maulkorb umgibt, auch nach der Geburt, praktisch betrachtet, eine spontane Aufnahme von Bakterien verhindern können.

Dadurch wird man imstande sein — jedenfalls für die kurze, zum Versuche erforderliche Zeit — dem neugeborenen Tiere, wie bereits erwähnt, eine erwünschte Darmflora beizubringen. Durch Wiederholung des C. O. Jensen schen Versuches (Eingabe verschiedener Reizstoffe) und durch Untersuchung der danach etwa in den Organismus eindringenden pathogenen Coli-Bazillen würde man in exakter Weise entscheiden können, ob diese wirklich mit der ursprünglich im Darme vorhandenen, harmlosen Form identisch waren.

Versuche, wie die hier skizzierten, wurden geplant, aber die zurzeit herrschenden schwierigen Verhältnisse — namentlich die Schwierigkeit einer Beschaffung eines hinlänglichen und geeigneten Materials von neugeborenen Kälbern (trächtigen Kühen) für die Versuche — haben bewirkt, daß diese Versuche sich zurzeit nicht verwirklichen ließen. Wenn derartige Versuche auch etwas außerhalb des Rahmens der gegenwärtigen Untersuchung fallen, würden sie sich doch naturgemäß den Untersuchungen anschließen, deren Resultate wir im folgenden aufgestellt haben, und sie würden unzweifelhaft wichtige und entscheidende Beantwortungen der Frage vom Ursprung der für Kälber pathogenen Coli-Bazillen und der Genesis der Coli-Bazillose bei jungen Kälbern geliefert haben.

III. Aërogenes-ähnliche Bakterien.

Mit dem Namen Bacillus aërogenes bezeichnet man bekanntlich nach Escherich eine Gruppe von Bakterien, die den Coli-Bazillen sehr nahestehen. Die wichtigsten Unterscheidungsmerkmale sollen sein, daß die Aërogenes-Bazillen ganz unbeweglich sind; sie sollen auf Gelatine in kreisrunden, halbkugelförmigen (gewölbten), porzellanweißen Kolonien wachsen, die von einer stark schleimig-feuchten Beschaffenheit sind; ferner sollen diese Bazillen bei der Zuckervergärung eine weit kräftigere Gasentwickelung ergeben als die Coli-Bazillen. Indessen ist die Grenze zwischen den Coli- und Aërogenes-Bazillen unzweifelhaft keine scharfe, und die genannten Unterscheidungsmerkmale sind vielleicht auch nicht konstant; so zeigte C. O. Jensen, daß

Escherichs Originalstamm tatsächlich ein beweglicher Bacillus ist, der mit einer geringen Anzahl von Geißeln versehen ist. Wahrscheinlich kommen auch Zwischenformen zwischen den Coli- und Aërogenes-Bazillen vor.

Wie die Coli-Bazillen, sind die Aërogenes-Bazillen in vorherrschendem Grade Darmbakterien, die oft als Saprophyten im Darm des Menschen und mehrerer Tiere nachgewiesen worden sind; indessen können sie auch als pathogene Formen vorkommen, die als Ursache verschiedenartiger Leiden (Darminfektionen, Cystitis, Mastitis u. a. m.) nachgewiesen worden sind. C. O. Jensen fand sie bei Kälbern als Ursache einer Darmentzündung mit darauf folgender Septikämie, die in allem Wesentlichen ähnliche Veränderungen veranlaßt, wie wir sie bei der Coli-Bazillose finden. Wie S. 204 erwähnt, hatten wir unter den untersuchten Coli-Stämmen 9 Stämme, die durch ihr Wachstum auf Gelatine in hohem Grade an Aërogenes-Bazillen erinnern; da sich diese Stämme aber in anderen Beziehungen (Beweglichkeit, Gärungsvermögen, Agglutination) durchaus typischen Coli-Formen anschließen, haben wir sie von diesen nicht ausgesondert. Indessen treffen wir nicht selten bei Kälbern Darminfektionen, die bedeutend von der typischen Kälberruhr abweichen, indem sie keine Septikämie veranlassen. Die Veränderungen beschränken sich auf eine mehr oder minder heftige Enteritis und in der Regel auf einige Affektionen der Lymphdrüsen des Darmes, dagegen sind die übrigen Organe unverändert, und man trifft die Bakterien nur im Darm und den dazu gehörenden Drüsen an. Mitunter kann es sich in diesen Fällen um typische Coli-Bazillen handeln, aber in bei weitem den meisten Fällen findet man eine von den typischen Coli-Bazillen leicht zu unterscheidende Form. So ist diese stets unbeweglich (das Vorhandensein von Geißeln ist jedoch nicht untersucht worden); auf Gelatine wächst sie ganz, wie die Aërogenes-Bazillen darauf wachsen sollen (große, runde, weiße, schleimige Kolonien), und ferner unterscheidet sie sich von allen untersuchten Coli-Formen durch ihr Verhalten gegenüber Rhamnose, indem sie diese Zuckerart erst nach einer längeren Zeit vergärt — auf festem Nährboden unter Bildung ähnlicher „Knötchen“, wie sie bei einer Reihe anderer Bakterien gewöhnlich unter der Bezeichnung „Mutation“ beschrieben worden sind. Was das hier in Frage stehende Bakterium betrifft, so findet die „Mutation“ gegenüber Rhamnose (die Abspaltung der Rhamnose vergärenden Zellen) erst ziemlich spät statt; auf festem Nährboden (Rhamnose-Fuchsin-Agar) erscheinen die „Knötchen“ erst nach 14 Tagen bis 1 Monat. Dies ist die von uns in der Tabelle S. 205 als Typus B III bezeichnete Form. Sie ist im wesentlichen der Uebersicht und des Vergleichs halber mitherangezogen worden; in Wirklichkeit muß sie ohne Zweifel von den eigentlichen Coli-Bazillen abgesondert werden. Die Berechtigung, ihr eine Sonderstellung zuzuteilen, dürfte hinlänglich motiviert sein durch die oben angeführten Charakteristika: das Wachstum auf Gelatine, das von den Coli-Formen abweichende Verhalten gegenüber Rhamnose, sowie nicht zum wenigsten ihr Verhalten im Organismus und die oben besprochenen, durch sie veranlaßten Veränderungen. Diese Charakteristika scheinen nämlich bei dieser Form, die dagegen keine Septikämie veranlaßt, ganz konstant zu sein. Dieses Verhältnis läßt sich auch experimentell nachweisen, indem Verfütterung ganz kleiner Mengen von Rein-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

kultur von Bakterien ($^1/_{10}$—1 ccm Bouillonkultur) an Spankälbern eine heftige, tödliche Diarrhöe mit Veränderungen veranlaßt, die durchaus den spontanen Fällen (Enteritis ohne Septikämie) entsprechen.

Da dieses Bakterium an Unbeweglichkeit und Wachstum auf Gelatine mit den Aërogenes-Bazillen übereinstimmt, haben wir es in deren Nähe angebracht, ohne es jedoch damit als einen Aërogenes-Bacillus bezeichnen zu wollen. Es ist nämlich nicht besonders stark gaserzeugend und verhält sich in der Beziehung zunächst wie Coli.

Bakterien, die in jeder Beziehung mit dieser besonderen, Aërogenes-ähnlichen Form übereinstimmen, haben wir im Darme von 3 gesunden, ca. 24 Stunden alten Kälbern (Kalb XVI, XVII und XVIII) nachgewiesen, die alle aus demselben Bestande stammen. Bei dem einen dieser Kälber (Kalb XVI) fanden sich die betreffenden Formen nur im Dünndarm, bei den beiden anderen dagegen in allen Darmabschnitten sowie im Labmagen, und zwar in vorherrschender Anzahl. Bei einem vierten Kalb aus demselben Bestande, sowie bei allen übrigen untersuchten Kälbern kam die Bakterienform nicht vor.

Die aus den 3 gesunden Kälbern isolierten Stämme waren, wie erwähnt, mit den aus den Kälberruhrfällen isolierten und für Kälber entschieden pathogenen Stämmen ganz identisch. Wie diese, waren sie stets unbeweglich, auch in ganz frischen Kulturen, und sowohl auf Agar als besonders auf Gelatine zeichneten sie sich durch ein sehr schleimig-feuchtes Wachstum aus; die isolierten Kolonien waren groß, saftig, schleimig, stark gewölbt, kreisrund und weiß. Gegenüber Rhamnose verhielten sie sich wie die pathogenen Stämme. Was die serologischen Verhältnisse betrifft, so gelang es nicht, ein brauchbares, agglutinierendes Serum an Kaninchen herzustellen, trotz der langwierigen Behandlung der Serumtiere. Auch in einer Verdünnung 1:20 trat keine deutliche Agglutination ein. Auch in dieser Beziehung stimmen die aus gesunden Kälbern isolierten Stämme mit den pathogenen überein. Für Mäuse waren diese Stämme nicht pathogen, auch nicht bei intraperitonealer Injektion von 0,1 ccm.

Im ganzen genommen, muß also das Verhältnis zwischen den normaliter vorkommenden und den pathogenen Stämmen dieser Gruppe als ein ganz ähnliches bezeichnet werden wie das der Coli-Bazillen.

In dieser Verbindung führen wir eine interessante Beobachtung an, die wir machten, nachdem diese Untersuchungen abgeschlossen waren. Aus dem obengenannten Bestande erhielt das Laboratorium im Winter 1916 zu einem anderen Zweck einige lebende junge Kälber, die 20—24 Stunden nach der Geburt von dem Gehöft abgesandt worden waren.

Bei dem einen Kalb wurde bei der Ankunft im Laboratorium beginnende Diarrhöe beobachtet. Dieselbe nahm fortwährend zu, und das Leiden, das alle Symptome einer Kälberruhr darbot, endigte nach ein paar Tagen mit dem Tode. Die Sektion ergab Darmentzündung und Infektion der Mesenterialdrüsen, im übrigen aber keine pathologischen Veränderungen, und die bakteriologische Untersuchung offenbarte das Vorhandensein der oben besprochenen Aërogenes-ähnlichen Bazillen im Darme und in den Mesenterialdrüsen, dagegen nicht in den Organen. Die Bakterien stimmten durchaus mit den früher aus gesunden Kälbern desselben Bestandes isolierten überein.

Wir haben hier einen Fall, der den oben besprochenen Enteritiden ohne Septikämie, die durch das für dieses Leiden typische Bakterium hervorgerufen waren, ganz entspricht, und dieser Fall war namentlich dadurch interessant, daß in dem Bestande, woraus das Kalb stammte, ja bisher keine Kälberruhr vorgekommen war, noch früher Aërogenes-ähnliche Bakterien im Darme von gesunden Kälbern nachgewiesen worden waren.

Da ausgeschlossen war, daß das Kalb während des Transportes infiziert sein konnte, lag die Möglichkeit vor, daß der Bestand mittlerweile infiziert worden war, so daß das Kalb die virulenten Bakterien an Ort und Stelle könnte aufgenommen haben; indessen fiel fortwährend kein Krankheitsfall unter den Kälbern vor, wenn sie in dem Gehöfte blieben, was sicherlich der Fall gewesen wäre, wenn dort virulente Bakterien vorhanden gewesen wären.

Es unterliegt somit kaum einem Zweifel, daß der Krankheitsfall des besprochenen Kalbes davon herrühren muß, daß die normaliter im Darme vorkommenden Aërogenes-ähnlichen Bakterien in derselben Weise, wie wir dies von den Coli-Formen her kennen, spontan virulente Eigenschaften angenommen haben. Der Grund dafür ist ohne Zweifel in erster Reihe in einer durch den recht langwierigen Transport und die dadurch hervorgerufenen mißlichen Verhältnisse (Hunger, Kälte) herabgesetzten Resistenz des jungen Tieres zu suchen.

IV. Bakterien der Paratyphus-Gruppe.

Die Frage vom Vorkommen der zu dieser Gruppe gehörenden Bakterien im Darmkanal gesunder Rinder und Kälber ist an mehreren Orten untersucht worden. Namentlich war man auf das Vorkommen von Paratyphus B- und Paracoli- (Enteritis-)Bazillen aufmerksam, von denen es ja sowohl für den Menschen wie für das Rind pathogene Formen gibt; es wäre, namentlich in betreff der Frage der Fleischvergiftungen, von großer Bedeutung, darüber Klarheit zu gewinnen, inwiefern diese Bakterien im Darme gesunder Tiere vorkommen. Während öfters paratyphus- oder paracoli-ähnliche Bakterien im Darme gesunder Tiere gefunden worden sind, sind echte Paratyphus B- oder Gärtner-Bazillen nicht mit Sicherheit nachgewiesen worden, trozdem ein nicht geringes Material untersucht worden ist. So haben Titze und Weichel Faeces von 104 und Aumann Faeces von 58 gesunden Kühen und Kälbern untersucht, ohne jemals weder Paratyphus B-, noch Paracoli-Bazillen anzutreffen. Auch Horn und Huber, die die Darmflora von 100 gesunden Tieren (erwachsenen Rindern) untersuchten, fanden keine durchaus typischen Paratyphus B- noch Paracoli-Bazillen, dagegen aber mehrere paraptyphusähnliche Bakterien. Fischer untersuchte 85 ältere Kälber, 10 junge Kälber und 10 erwachsene Ochsen, ohne ein einziges Mal zur Paratyphusgruppe gehörende Bakterien anzutreffen. Nur Morgan und Eckert geben an: „Enteritisbazillen“ und „Paratyphusbazillen“ im Darme von Rindern gefunden zu haben, ohne daß sich doch nach den Beschreibungen entscheiden läßt, ob es sich um echte Paratyphus B- und Paracoli-Bazillen handelt.

Bei den 34 von uns untersuchten Kälbern wurden keine echten Paratyphus B- noch Paracoli-Bazillen angetroffen, trotzdem wir auf deren etwaiges Vorkommen

in besonderem Grade aufmerksam waren. Nur bei einem Kalb (Kalb III) fand sich bei einer Plattenverbreitung aus dem Dünndarm eine Kolonie eines zur Paratyphusgruppe gehörenden Bakteriums. Die betreffende Kolonie war eine Oberflächenkolonie, die stark ausgebreitet war und einen sehr eingeschnittenen, zottigen Rand hatte. Die Bakterien besaßen sehr lebhafte Eigenbewegung; sie vergärten keine Laktose, wuchsen aber auf diesem Nährboden als ein recht trockener Belag. In betreff des Gärungsvermögens gegenüber verschiedenen Zuckerarten und polyvalenten Alkoholen wich diese Form von den gewöhnlichen Paratyphus B- und **Paracoli**-Bazillen dadurch ab, daß sie Sorbose und Adonit vergärte, welche beiden Stoffe nicht von den typischen Paratyphus- und **Paracoli**-Bazillen vergärt werden; andererseits vergären diese Sorbit, das von dem besprochenen Stamm nicht vergärt wird. Siehe im übrigen die folgende Tabelle:

	Dextrose	Laktose	Saccharose	Maltose	Sorbose	Arabinose	Rhamnose	Dulcit	Adonit	Sorbit	Mannit
Paratyphus B	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	+
Paracoli	+	0	0	+	0	{+ 0}	+	+	0	+	+
Bazillen-Kalb III	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+
Paratyphus-Hume	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+

Recht interessant war es nun, daß ein von **Hume** aus einem „Paratyphusfall“ bei einem Menschen isolierter Paratyphusstamm sich in betreff des Gärungsvermögens ganz wie der aus Kalb III isolierte Stamm verhielt, wie dies aus der Tabelle hervorgeht. Die Uebereinstimmung zwischen den beiden Stämmen erstreckt sich noch weiter; auch das Wachstum auf Gelatine war durchaus dasselbe. C. O. **Jensen**, der den Paratyphus-**Hume**-Stamm genau untersucht hat, gibt an (Ugeskrift f. Læger, 1904), daß dieser Stamm durch Fermentwirkung Milch koaguliert. Eine Untersuchung des Kälberstammes gab ein entsprechendes Resultat; während dieser Stamm keine Laktose vergärte, koagulierte er, in Milch gesät, diese nach ca. 4 Tagen. Das Gerinnsel war einheitlich, aber ziemlich locker. Verteilung aus einer derart geronnenen Milchkultur in Lackmus-Laktose-Agar ergab Vorhandensein einer Reinkultur von nichtlaktosevergärenden Bakterien. Die Koagulation rührt somit auch bei diesem Stamme wahrscheinlich von einer Fermentwirkung her.

Bei näheren Untersuchungen der beiden Stämme zeigten diese sich doch in serologischer Beziehung verschieden. An Kaninchen wurden stark agglutinierende Seren mit beiden Stämmen hergestellt, aber nur die homologen Stämme wurden von den beiden Seren agglutiniert. Wenn sie also auch nicht als ganz identisch bezeichnet werden können, sind die beiden Stämme doch offenbar sehr nahe verwandt.

Bei Enteritisfällen bei älteren Kälbern wurde zu wiederholten Malen im Darminhalt das Vorhandensein von Bakterien nachgewiesen, die durchaus mit Stamm Kalb III übereinstimmen. Ob diese Bakterien rigendwelche Verbindung mit der Enteritis hatten, ist unsicher; sie waren nur in mäßiger Anzahl vorhanden. Gegenüber kleineren Versuchstieren waren sie — wie Stamm Kalb III — nicht pathogen.

Die Kälberstämme und Paratyphus-Hume gehören offenbar zu einer besonderen Untergruppe, der Paratyphus-Gruppe, im wesentlichen charakterisiert durch ihr Gärungsvermögen und ihr Vermögen, Milch zu koagulieren; ihre Bedeutung als pathogene Formen ist aber zweifelhaft und jedenfalls weit geringer als die der Paratyphus B- und Paracoli-Bazillen.

Literaturverzeichnis.

Altmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54.
Altmann u. Rauth, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 7.
Amiradzibi, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 6.
Ankersmit, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39.
Aumann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57.
Conradi u. Bierast, Bact. coli commune. (Handb. d. path. Mikroorg. v. Kolle-Wassermann. Bd. 6. 1913.)
Eckert [Dissertation]. Gießen 1909.
Escherich, Verhandl. d. XVII. Kongress. f. inn. Med. 1899.
— u. Pfaundler, Bact. coli commune. (Handb. d. path. Mikroorg. v. Kolle-Wassermann, Bd. 2. 1903.)
Fischer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77.
Grosso, Zeitschr. f. Infektionskr. d. Haust. Bd. 12.
Hindersson [Dissertation]. Dresden 1912. (Medd. fra d. Kgl. Vetr.- og Landbohøjskoles Serumlab. XX.)
Horn u. Huber, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61.
Jensen, C. O., Maanedsskr. f. Dyrlæger. Bd. 4, 12 og 22.
— Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 9.
— Biolog. Selsk. Forhandl. 1897—98 u. 1899—1900.
— Overs. ov. d. Kgl. danske Vidensk. Selsk. Forhandl. 1911.
— Kälberruhr. (Handb. d. path. Mikroorg. v. Kolle-Wassermann. Bd. 6. 1912.)
— Ugeskr. f. Læger. 1904.
Joest, Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 7.
Küthe, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76.
Levy u. Jacobsthal, Arch. f. Hyg. Bd. 44.
Morgan, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Refer. Bd. 38.
Neumann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46.
Paltauf, Die Agglutination. (Handb. d. path. Mikroorg. v. Kolle-Wassermann. Bd. 2. 1913.)
Poels, Rapport over de Kalverziekte in Nederland. 's Gravenhage 1899.
Smith, Th., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 18.
Smith, Henry Lee, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25.
Stöcklin, Referiert nach Conradi u. Bierast, Handb. d. path. Mikroorg. Bd. 6. 1913.
Titze u. Weichel, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 33.

Nachdruck verboten.

Ueber eine Typhusepidemie bei Typhusschutzgeimpften, hervorgerufen durch Bacterium typhi mutabile.

[Aus der Prosektur des schlesischen Krankenhauses in Troppau
(Prosektor: Dozent Dr. A. Materna).]

Von Dr. **Richard Penecke,** k. k. Bezirksarzt.

Im September 1916 konnte ich gelegentlich einer einheitlichen Typhusepidemie von insgesamt 36 Typhuserkrankungen bei den bakteriologisch sichergestellten Fällen aus dem Blut atypische Typhusbazillen züchten, die sich in ihrem kulturellen Verhalten untereinander völlig gleichartig erwiesen. Von einigen Abweichungen abgesehen, gehören die Stämme jener Abart des Bacterium typhi an, die zuerst von Jacobsen, dann von Fromme und Göbel und in letzter Zeit von Gildemeister in vereinzelten Fällen bei Typhuskranken beobachtet wurde. Eine einheitliche, durch solche Stämme hervorgerufene Epidemie ist bisher, soweit ich die Literatur übersehe, nicht beobachtet worden.

Ueber die Epidemiologie der Erkrankungen ist kurz folgendes zu berichten: In einem völlig isoliert gelegenen Schloßhof Westschlesiens war eine Ersatzkompagnie von ca. 600 Mann eines galizischen Infanterieregimentes untergebracht.

Unter den Mannschaftspersonen dieses Ersatzkörpers kam im August ein damals unerkannter Typhusfall vor. Die Dejekte dieses Kranken wurden in undesinfiziertem Zustande in eine ungünstig angelegte Latrinenanlage geleert, von der aus eine Infektion des Brunnens im Schloßhofe erfolgen konnte.

Anfang September erkrankten in den verschiedenen, vom Militär belegten Räumlichkeiten des Schlosses gleichzeitig Mannschaftspersonen der Ersatzkompagnie sowie 2 Zivilpersonen, die mit dem Militär in keinerlei Kontakt standen und in einem Nebengebäude des Gehöftes wohnten, jedoch ihr Trink- und Gebrauchswasser vom Brunnen holen ließen. Die Zahl der Erkrankten war in Anbetracht der gemeinsamen Infektionsquelle, des Brunnens, deshalb eine verhältnismäßig geringe, da nur wenige Leute das Wasser des Brunnens zu trinken pflegten.

Am 22. September kam uns Brunnenwasser zur bakteriologischen Untersuchung zu. Es gelang uns damals zwar nicht mehr, darin Typhusbazillen nachzuweisen; das Wasser erwies sich jedoch als mit Bacterium coli sehr stark verunreinigt.

Die Epidemie erstreckte sich auf 34 gegen Typhus schutzgeimpfte Militär- und 2 nicht geimpfte Zivilpersonen und kam nach der am 26. September erfolgten Brunnensperre und Assanierung der Latrinenanlage zum Erlöschen.

Die Typhusfälle blieben ferner, bis auf 2 bei Militärpersonen, auf dem Schloßhof völlig lokalisiert. Diese beiden waren in den ersten Septembertagen vom Schloßhof in einen anderen Ort Westschlesiens

Tabelle I.

Uebersicht über die Typhusfälle bei Schutzgeimpften.

Protokoll-No.	Alter	Erkrankt am	Blutentnahme für Kultur				Typhusschutzimpfung 1916			Krankheitsverlauf
			am	positiv	negativ	Krankheitswoche	1.	2.	3.	
10 900	20 J.	Anfang Sept.	19. Sept.	+	.	2.	8. Sept.	.	.	sehr schwerer Fall, Nephritis, † 3. Okt.
10 898	26 J.	dgl.	19. „	+	.	2.	8. „	.	.	schwerer Fall
10 872	26 J.	8. Sept.	19. „	+	.	2.	2. „	.	.	schwerer Fall, Nephritis, Phlegmonen
10 874	18 J.	8. „	19. „	+	.	2.	7. Juni	12. Juni	.	sehr schwerer Fall, Darmblutung, † 28. Sept.
10 967	40 J.	8. „	21. „	+	.	2.	12. April	25. April	.	leichter Fall
10 973	28 J.	8. „	21. „	+	.	2.	7. Juni	12. Juni	.	sehr schwerer Fall, Nephritis, † 28. Sept.
10 904	20 J.	9. „	19. „	.	—	2.	8. Sept.	.	.	leichter Fall
10 876	18 J.	10. „	19. „	.	—	2.	7. Juni	12. Juni	.	mittelschwerer Fall
10 890	26 J.	10. „	19. „	+	.	2.	2. Sept.	.	.	schwerer Fall, Nephritis
10 944	33 J.	10. „	21. „	+	.	2.	unbekannt wann			schwerer Fall, Darmblutung
10 950	33 J.	10. „	21. „	.	—	2.		„	„	schwerer Fall
10 894	18 J.	13. „	19. „	+	.	1.	8. Sept.	.	.	sehr schwerer Fall, Nephritis
10 914	24 J.	13. „	19. „	+	.	1.	8. „	.	.	mittelschwerer Fall, leichtes Rezidiv
10 866	28 J.	14. „	19. „	+	.	1.	8. „	.	.	mittelschwerer Fall
10 868	18 J.	14. „	19. „	+	.	1.	15. Aug.	29. Aug.	.	„ „
10 910	18 J.	14. „	20. „	.	—	1.	8. Sept.	.	.	„ „
10 864	21 J.	15. „	19. „	+	.	1.	8. Juli	.	.	sehr schwerer Fall, Nephritis, † 22. Sept.
10 870	21 J.	15. „	19. „	+	.	1.	8. Sept.	.	.	mittelschwerer Fall
10 896	18 J.	15. „	20. „	+	.	1.	8. „	15. Sept.	.	schwerer Fall, Ikterus, Darmblutung
10 912	18 J.	15. „	19. „	+	.	1.	18. Mai	24. Mai	8. Sept.	mittelschwerer Fall
10 978	26 J.	15. „	21. „	.	—	1.	15. Aug.	.	.	sehr schwerer Fall, Darmblutung, Rezidiv in der 9. Woche
12 366			15. Nov.	.	—	9.				
10 892	41 J.	16. „	19. Sept.	+	.	1.	15. Sept.	.	.	leichter Fall
10 908	21 J.	16. „	19. „	+	.	1.	8. „	.	.	sehr schwerer Fall, Nephritis, Furunkel
10 902	18 J.	17. „	19. „	+	.	1.	7. Juni	12. Juni	.	sehr schwerer Fall, Pneumonie, Empyem
10 969	18 J.	19. „	21. „	+	.	1.	7. „	12. „	.	leichter Fall
10 977	18 J.	20. „	21. „	+	.	1.	8. Juli	15. Juli	.	„ „
11 161	21 J.	24. „	30. „	.	—	1.	15. Sept.	24. Sept.	.	Typhusverdacht, 30. Sept. bis 5. Okt. remittierendes Fieber, dann fieberfrei, 19. Okt. Einsetzung von Continua
11 644			20. Okt.	+	.	4.				
11 155	18 J.	26. „	30. Sept.	+	.	1.	28. Mai	3. Juni	.	mittelschwerer Fall
11 157	45 J.	26. „	30. „	+	.	1.	24. Jan.	1. Febr.	23. Sept.	„ „
11 084	28 J.	26. „	27. „	+	.	1.	Mai oder Juli	.	.	leichter Fall
11 278	18 J.	2. Okt.	6. Okt.	.	—	1.	7. Juni	12. Juni	.	leichter Fall mit leichtem Rezidiv in der 4. Woche
12 210			9. Nov.	.	—	4.				
11 394	18 J.	6. „	11. Okt.	+	.	1.	18. Mai	24. Mai	.	leichter Fall
11 539	18 J.	8. „	17. „	.	—	2.	3. Sept.	24. Sept.	.	„ „
11 731	18 J.	20. „	24. „	+	.	1.	24. „	.	.	ziemlich schwerer Fall

transferiert worden und erkrankten dort am 10. September. Bei einem konnte ich aus der am 22. September eingelangten Blutprobe Typhusbazillen desselben Stammes wie bei den übrigen Erkrankungen züchten.

Der klinische Verlauf bei den Militärpersonen war, obwohl alle vor längerer oder kürzerer Zeit, wie aus Tabelle I zu ersehen ist, gegen Typhus geimpft waren, ein ausgesprochen schwerer.

Bei einer Mortalität von 11,76 Proz. (4 Fälle) waren 8 Erkrankungen sehr schwer, 7 als schwer, 10 als mittelschwer und nur 9 als leicht zu bezeichnen. Hervorzuheben ist, daß bei vielen Fällen der Typhus mit pneumonischen Erscheinungen einsetzte.

Auch die beiden zivilen Fälle hatten einen ausgesprochen schweren Charakter. Dieselben wurden von uns nicht kulturell sichergestellt, da von ihnen erst am 4. Oktober, als die beiden bereits in Rekonvaleszenz waren, Untersuchungsobjekte einlangten. Die Gruber-Widalsche Reaktion war damals bei einem 1:50, beim anderen 1:100 für Typhus positiv.

Tabelle I gibt eine allgemeine Uebersicht über die Typhusfälle unter den schutzgeimpften Soldaten. In allen Fällen wurde die Blut-Galleanreicherung nach Kayser-Conradi zum Nachweis der Typhusbazillen im strömenden Blut angestellt.

Die von uns gebrauchte Methodik hat jüngst Materna in der Berliner klinischen Wochenschrift des näheren beschrieben, und ich verweise diesbezüglich auf den betreffenden Artikel. Materna führt dort auch die Hundertzahlen der positiven Blutkulturen dieser Epidemie an, die nun eine Korrektur erfahren, da die Epidemie damals noch nicht abgeschlossen war. Desgleichen war die Epidemiologie damals noch nicht klargestellt. Die Erkrankungen sind von ihm als Kontaktfälle bezeichnet.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, gelang von den 34 Fällen bei 27 der Nachweis der spezifischen Erreger. Dieser hohe Hundertsatz von 79,5 Proz. steht in einem gewissen Gegensatz zu den Angaben verschiedener Autoren, die in letzter Zeit die Beobachtung machen konnten, daß bei Typhusschutzgeimpften der Nachweis der spezifischen Erreger im strömenden Blut durch das Auftreten bakterizider Stoffe im Serum erschwert sei. So gelang Hohlweg und Scriba die Blutkultur in 60 Proz., Lämpe auffallend selten und Schott nur in 30 Proz.

Ob die Typhusbazillen bei den leicht verlaufenden Erkrankungen von Geimpften, wie dies Herbach und Herxheimer beschrieben, schwerer oder gar nicht aus dem Blut züchtbar sind, darüber gibt diese Epidemie keinen eindeutigen Aufschluß, da die meisten Fälle einen ziemlich schweren Verlauf hatten.

Ich will nun noch kurz den Impfzustand der Erkrankten wiedergeben. Nach den mir zugänglichen Angaben waren im Jahre 1916 18 einmal geimpft, 14 hatten eine 2malige Typhusimpfung hinter sich, bei 2 war die Impfung 3mal vorgenommen worden.

Einmal geimpfte Typhuskranke mit positiver Blutkultur:

Von der Impfung bis zur Blutentnahme waren verstrichen:

1—14 Tage	8mal
14 Tage bis 1 Monat	3mal
1—2 Monate	2mal
unbekannter Zeitraum	1mal
zusammen	14

Einmal geimpfte Typhuskranke mit negativer Blutkultur:

Von der Impfung bis zur Blutentnahme waren verstrichen:

1—14 Tage	2mal
1—2 Monate	1mal
unbekannter Zeitraum	1mal
zusammen	4

Von den 4 Fällen mit negativer Blutkultur war 1 ein sehr schwerer Fall mit Darmblutung und Rezidiv in der 9. Woche. Die 2malige Blutkultur in der 1. und 9. Woche war negativ. 1 war ein schwerer Fall, ohne weitere Komplikationen, 1 zeigte einen mittelschweren und 1 einen leichten Krankheitsverlauf. Die Blutkultur erzielte demnach bei den 1mal Geimpften in 14 von 18 Fällen ein positives Resultat, d. i. in 77,77 Proz.

Zweimal geimpfte Typhuskranke mit positiver Blutkultur:

Von der Impfung bis zur Blutentnahme waren verstrichen:

1—14 Tage	1mal
14 Tage bis 1 Monat	2mal
2—5 Monate	8mal
zusammen	11

Zweimal geimpfte Typhuskranke mit negativer Blutkultur:

Von der Impfung bis zur Blutentnahme waren verstrichen:

3 Wochen bis 1½ Monat	1mal
3—5 Monate	2mal
zusammen	3

Von den Fällen mit negativer Blutkultur hatten 2 einen leichten und 1 einen mittelschweren klinischen Verlauf.

Die 2 Typhuskranken mit 3maliger Impfung hatten beide eine positive Blutkultur. Die 1. und 2. Impfung lag beim einen 3—4 Monate, die 3. 11 Tage zurück. Beim 2. waren seit der 1. und 2. Impfung 7—8 Monate und von der 3. 1 Woche bis zur Blutentnahme verstrichen. Beide hatten einen mittelschweren klinischen Verlauf. Die 2mal und die beiden 3mal Geimpften ergaben in 13 von 16 Fällen eine positive Blutkultur, also in 81,25 Proz.

Die Blutkultur gelang daher bei den 1mal und 2- bzw. 3mal Geimpften fast gleich oft. Ein wesentlicher Einfluß der Impfung auf den Nachweis der Erreger im strömenden Blut war demnach nicht zu bemerken. Die Galleanreicherung wurde bei 5 der negativen Fälle nur 1mal angestellt, nur bei 2 erhielten wir ein 2. Mal ein Blut-Galleröhrchen. Die 27 positiven Kulturen ergaben, bis auf 1, bei nur 1maliger Blutentnahme ein positives Resultat.

Die Hundertzahl der positiven Kulturen von 79,5 Proz. ist ungefähr die gleich hohe, wie man sie im Frieden bei nicht geimpften Typhuskranken zu sehen gewohnt ist.

Teilt man die Erkrankungen mit positiver Kultur nach dem klinischen Verlauf in Gruppen von sehr schweren, schweren, mittelschweren und leichten Fällen ein, so sieht man allerdings, daß die Hundertzahlen der positiven Blutkulturen bei leichterem klinischen Verlauf geringer sind. So geben die Fälle der 1. Gruppe in 87,5 Proz. (7 von 8), die der 2. in 85,71 Proz. (6 von 7), die der 3. in 80 Proz. (8 von 10) und die der letzten Gruppe nur in 66,66 Proz. (6 von 9) eine positive Blutkultur.

Wenn auch die Zahlen dieser Epidemie viel zu klein sind, um allgemeine Schlüsse daraus zu ziehen, so zeigen sie doch auch, wie dies Herxheimer betont, daß sich bei den Fällen mit stärkerem Fieber die Bacillen aus dem Blut zumeist auffinden lassen, während bei den leichter verlaufenden Erkrankungen, infolge der kürzer dauernden und möglicherweise schwächeren Bakteriämie, ein positiver Bazillenfund relativ weniger oft zu erzielen ist. Herxheimer verzeichnet bei schweren Erkrankungen 78 Proz., bei mittelschweren 33 Proz., bei leichten 12 Proz. positive Blutkulturen; Herbach sah in den beiden ersten Gruppen 50 Proz., in der letzten nur 5 Proz. erfolgreicher Blutkulturversuche.

Ich will nun auf die eigentliche Beschreibung der in 27 Fällen aus dem Blut gezüchteten Typhusbazillen übergehen.

Auf den von uns in Verwendung gezogenen Drigalski-Conradi-Platten, die nach 24-stündiger Galleanreicherung mit dem in Petri-Schalen gegossenen, kräftig durchmischten Inhalt der Galleröhrchen beimpft worden waren, zeigte sich nach 24-stündiger Bebrütung in allen Fällen ein ganz zarter, schleierartiger Ueberzug, bestehend aus feinsten, punktförmigen, mit freiem Auge kaum sichtbaren Einzelkolonien von 35—80 μ Durchmesser. Die Koloniengröße war also ungefähr 20—30mal so klein als die der gewöhnlichen Typhusstämme gleicher Wachstumsdauer.

Die Einzelkolonien waren völlig kreisrund. Die Platten machten makroskopisch den Eindruck, als ob auf ihnen sehr zarte Streptokokkenkolonien gewachsen wären. Die Kolonien ließen den Nährboden völlig unverändert. Neben diesen Zwergkolonien waren auf den primären Platten nirgends Kolonien anderen Types sichtbar, auch dort nicht, wo die Kolonien dichter beisammenstanden.

Bakterienmaterial dieser Kolonien, im hängenden Tropfen untersucht, gab stets das eindeutige Bild ovoider, unbeweglicher Kurzstäbchen von 0,9—1,8 μ Länge. Die Stäbchen der primären Kultur hatten außerdem die Eigenschaft, daß sie teilweise in Gruppen von 6—20 Stäbchen zusammenklebten, also das Bild gaben, als ob sie teilweise spontan agglutiniert wären. Die nicht kohärierenden Stäbchen wiesen eine kaum merkbare Brownsche Molekularbewegung auf.

Dieser Befund, den ich bei allen primären Blutkulturen ganz regelmäßig erheben konnte, steht im Gegensatz zu den von Jacobsen gesehenen Formen. Dieser konnte, wie Fromme, Göbel und Gildemeister, eine lebhafte Eigenbewegung der Typhusbazillen mit Zwergwuchs auf den Blauplatten beobachten.

Die Typhusimpfung kann wohl nicht die Ursache dieser spontanen Agglutination sein, da sich die Patienten, von denen die Bakterien stammten, in den verschiedensten Stadien des Impfschutzes befanden, ja bei einer Reihe von ihnen die 1malige Impfung erst Tage zurücklag.

Wir konnten auch diese eigentümliche Eigenschaft bei keinem der von uns bisher aus dem Blut gezüchteten Typhusstämme schutzgeimpfter Patienten bemerken. Desgleichen war eine Beeinflussung des Wachstums der Typhusbazillen durch zu starke Erhitzung des Drigalski-Agars, wie dies Jacobsen annahm, nicht als Ursache des Zwergwuchses verantwortlich zu machen, da wir die Nährböden nicht im Autoklaven sterilisieren und auf demselben Nährboden gleichzeitig aus Blut gezüchtete Typhusbazillen anderer Herkunft, sowohl von geimpften als auch ungeimpften Patienten, stets das völlig typische Bild des Kulturrasens und der Bakterien im hängenden Tropfen boten.

Die Probeagglutination der atypischen Stämme mit einer Verdünnuug von 1 : 500 eines Immunserums vom Titer 1 : 8000 ergab eine schwache, aber deutlich stärkere Zusammenballung der teils agglomerierten Stäbchen der Primärkultur.

Von der Ausgangsplatte auf Bouillon überimpft, erzeugten die atypischen Typhusbazillen nach 6 Stunden eine homogene, ziemlich starke Trübung. Im hängenden Tropfen aus den Bouillonröhrchen sah man die gewöhnliche schlängelnde Bewegung der Typhusbazillen. Mit einer Immunserumverdünnung von 1 : 1000 waren die Stäbchen im hängenden Tropfen leicht und gut agglutinabel.

Zur makroskopischen Agglutination wurden die Bakterien von Bouillon auf Schrägascitesagar überimpft. Auf diesem hatten sie, wie es Fromme beschreibt, ein üppigeres Wachstum als auf den Blauplatten. Der Kulturrasen war ziemlich kräftig entwickelt, die Einzelkolonien kreisförmig und glattrandig, von einem Durchmesser von 1—1½ mm nach 24-stündigem Wachstum. Anschließend führe ich eine Reihe von makroskopischen Agglutinationen verschiedener Stämme dieser Epidemie an:

Tabelle II.

Protokoll-No.	Typhusimmunserum		Gärtner-Immunserum		Paratyphus A	Paratyphus B
	Titer 1 : 8000		Titer 1 : 20 000		1 : 3000	1 : 20 000
	1 : 2000	1 : 4000	1 : 100	1 : 500	1 : 100	1 : 100
10 864	+++	++	++	—	—	—
10 866	+++	++	++	—	—	—
10 868	+++	++	++	—	—	—
10 870	+++	++	++	—	—	—
10 872	+++	++	++	—	—	—
10 874	+++	++	++	+	—	—
10 890	+++	++	++	—	—	—
10 896	+++	++	++	—	++	—
11 155	+++	++	++	—	—	—
11 157	+++	++	++	—	—	—
11 301	+++	++	—	—	++	—
11 644	+++	+	++	—	++	—
11 731	+++	++	++	—	+	—

+++ = vollständige Agglutination.
++ = unvollständige Agglutination.
+ = angedeutete Agglutination.
— = keine Agglutination.

Aus der Tabelle II ersieht man, daß sich die Stämme gegenüber den verschiedenen Immunseris der Typhusgruppe ziemlich gleichartig verhielten. Durch Typhusimmunserum wurden alle nicht ganz bis zur Titergrenze agglutiniert. Bei einer Verdünnung von 1 : 2000 trat vollständige Agglutination auf; bei Verdünnung 1:4000 waren die Bakterien nur teilweise agglutiniert. Gleichzeitig agglutinierte Kontrollstämme gewöhnlichen Wachstums wurden mit demselben Typhusimmunserum in der Verdünnung 1:4000 stets vollständig, bei 1:8000 teilweise agglutiniert.

Die Stämme waren demnach etwas schwerer agglutinabel, als Typhusstämme gewöhnlicher Wuchsform. Die geringe Gruppenagglutination gegen Immunserum von Bacillus enteritidis Gärtner und Paratyphus A ist ja bekannt und fast stets zu beobachten.

Die biologischen Reaktionen der atypisch gewachsenen Stämme mit den verschiedenen Lackmusnutrose-Zuckerlösungen, Lackmusmolke, Neutralrotagar und Milch zeigten ein in keiner Weise abweichendes Verhalten.

Von den Bouillonkulturen sämtlicher Stämme wurden neuerlich Drigalski-Platten beimpft, auf denen sie abermals das kümmerliche Wachstum wie in der primären Kultur hatten. Im hängenden Tropfen untersucht, zeigten sie allerdings nicht mehr die spontane Häufchenbildung, sie blieben aber im allgemeinen auch weiterhin auf den festen Nährböden, bis auf eine geringe Molekularbewegung, unbeweglich.

Da die Untersuchungsbefunde in allen 27 Fällen stets völlig gleichbleibend waren, wurden nur 2 der Stämme eingehender in bezug auf ihr weiteres Wachstum auf den verschiedenen Nährböden untersucht. Es sind dies Stamm 11644 und 11731. In beiden Fällen war bei weiterem täglichen Ueberzüchten auf Drigalski- und gewöhnlichem 3-proz. Agar in Schalen oder Schrägröhrchen stets nach 24 Stunden dasselbe, ungefähr ebenso zarte Wachstum wie in der Ausgangskultur zu sehen. Die Bakterien blieben im allgemeinen unbeweglich, oder es zeigten höchstens einzelne Individuen eine träge Eigenbewegung. Durch Immunserum war im hängenden Tropfen mit einer Verdünnung von 1:500 bis 1:1000 stets eine deutliche Agglutination zu erzielen. Das spontane Zusammenballen der Stäbchen der Ausgangskultur ging beim weiteren Ueberzüchten verloren.

Auf Ascitesagar war das Wachstum, wie bereits erwähnt, üppiger, die Einzelkolonien waren kreisrund, und der Unterschied in der Koloniengröße gegen einen gleichzeitig mit Stamm 11731 aus dem Blut gezüchteten Typhus gewöhnlicher Wuchsform war kein so erheblicher, wie auf Agar oder den Blauplatten. Von Ascitesagar auf Drigalski überimpfte Bakterien wiesen stets wieder die Zwergwuchsform auf.

Die Koloniengröße auf Gelatine betrug nach mehrtägigem Wachstum gegen den Vergleichsstamm ungefähr die Hälfte. Die Kolonien waren typisch weinblattartig gelappt. Die Bakterien waren unbeweglich oder einzelne Individuen schwach beweglich.

In Bouillon sah man in beiden Fällen stets nach 6 Stunden eine homogene, gleich starke Trübung wie beim Vergleichsstamm gewöhnlicher Wuchsform. Die Stäbchen wiesen die typische Eigenbewegung der Typhusbazillen auf und waren im hängenden Tropfen rasch und gut agglutinabel.

Die beiden Stämme wurden nun nach dem Vorgehen von Jacobsen auf Endo-Agar und Drigalski-Agar, dem eine dem Endo-Agar entsprechende Menge Natriumsulfit zugesetzt war, gebracht. Hier war die Wachstumshemmung sofort aufgehoben. Die Kolonien wiesen die gleiche Größe und Ueppigkeit wie die des Kontrollstammes auf. Die

Stäbchen hatten auf diesem Nährboden auch ihre normale Eigenbewegung. Ueberimpfte man von hier neuerdings auf natriumsulfitfreien, gewöhnlichen Agar oder Drigalski-Agar mit und ohne Kristallviolettzusatz, so war augenblicklich der Rückschlag in die Zwergwuchsform zu erzielen.

Von Stamm 11 644 gelang es nun schließlich, von einer Drigalski-Platte 5. Generation Typhusbazillen mit normaler Wuchsform abzuspalten.

Auf der Platte zeigte sich nach 3-tägigem Wachstum im Brutschrank neben den punktförmigen Kolonien eine üppig gewachsene Kolonie. Bakterien derselben, auf Drigalski-Agar überimpft, wiesen nach 24 Stunden ein üppiges Wachstum mit gewöhnlicher Koloniegröße auf. Die Stäbchen der Kolonien waren rasch und typisch beweglich und im hängenden Tropfen leicht agglutinabel. Das üppige Wachstum blieb bei weiterem Ueberzüchten dauernd erhalten. Von Schrägagar makroskopisch agglutiniert, zeigten die Bakterien eine Agglutination bis zur Titergrenze von 1:8000. Auf Endo- und Drigalski-Agar mit Natriumsulfitzusatz war ebenfalls das Wachstum ein gewöhnliches, desgleichen auf den übrigen gebräuchlichen festen und flüssigen Nährböden. Ein Rückschlag dieses mutierten, abgespaltenen Stammes in das kümmerliche Wachstum des Ausgangsstammes konnte bisher nicht erzielt werden.

Die frisch aus dem Blut gezüchteten Stämme zeigten demnach alle jene Eigenschaften, wie die von Jacobsen, Fromme und Göbel sowie Gildemeister beobachteten. Der einzige Unterschied gegen diese ist der, daß die von mir beobachteten Stämme, besonders in der primären Kultur aus dem Blut, die Eigenbewegung ganz, bei weiterem Ueberzüchten auf festen Nährböden fast völlig vermissen ließen.

Schlußsätze:

1) Bei einer einheitlichen Typhusepidemie von typhusschutzgeimpften Militärpersonen wurden in 79,5 Proz. der Fälle aus dem Blute der Patienten Typhusbazillen mit Zwergwuchs auf Drigalski-Conradi-Agar gezüchtet.

2) Ein Einfluß der Impfung auf den Nachweis der Erreger aus dem Blut wurde hierbei nicht beobachtet.

3) Das Wachstum der Stämme war streptokokkenähnlich und wurde bei Passagezüchtung unverändert beibehalten. Die beobachtete Wachstumshemmung konnte durch Zusatz von Ascitesflüssigkeit teilweise, durch den von Natriumsulfit völlig aufgehoben werden. Rückimpfungen auf Natriumsulfit- oder ascitesfreien Agar hatten wieder kümmerliches Wachstum zur Folge.

4) Es gelang, von einer Drigalski-Plattenkultur der Zwergwuchsform Typhusbazillen gewöhnlichen Wuchses abzuspalten, die diese Wuchsform dauernd beibehielten. Die 27, anläßlich einer einheitlichen Epidemie aus dem Blut gezüchteten Stämme gehören demnach in die Gruppe der von Jacobsen, Fromme, Göbel und Gildemeister beobachteten Typhusbazillen mit Zwergwuchsform.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prosektor, Dozenten Dr. Materna für die Ueberlassung des Themas, sowie Herrn Regierungs-

rat Dr. **Alexander von Rositzky**, Landessanitätsreferenten von Schlesien, für sein weitgehendes Entgegenkommen meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen. Desgleichen bin ich Frau Dr. **Fuchs-Reich** des k. u. k. Reservespitals II in Jägerndorf und Herrn Primarius Dr. **Ludwig** in Freudenthal für die liebenswürdige Ueberlassung der Kranken- und Impfdaten zu Dank verpflichtet.

Literatur.

1) **Fromme**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. S. 445.
2) **Gildemeister**, ebendort. Bd. 78. 1916. S. 209.
3) **Göbel**, ebendort. Bd. 75. 1915. S. 376.
4) **Jacobsen**, ebendort. Bd. 56. 1910. S. 208.
5) **Herbach**, Berlin. klin. Wochenschr. 1916. S. 989.
6) **Herxheimer**, ebendort. 1916. S. 1003.
7) **Hohlweg**, München. med. Wochenschr. 1915. S. 538.
8) **Lämpe**, Deutsch. med. Wochenschr. 1916. S. 1120.
9) **Materna**, Berlin. klin. Wochenschr. 1917.
10) **Schott**, Münch. med. Wochenschr. 1916. S. 1567.
11) **Scriba**, ebendort. 1915. S. 764.

(G. C.)

Nachdruck verboten.

Zur Differenzierung der Bakterien der Coli-Typhusgruppe mittels gefärbter Nährböden und der Harngelatine.

[Aus dem Bakteriol.-physiolog. Institut von Dr. Piorkowski, Berlin.]

Von Dr. **Piorkowski**, Berlin.

Die Zahl der Nährböden, insbesondere die der gefärbten Art, welche zu Unterscheidungszwecken der Coli-Typhusgruppe herangezogen worden sind, ist schier unübersehbar geworden, und wenn man heute nach einem Zeitraum von 20 Jahren das Fazit aller der eingehenden und ausgreifenden Arbeiten zieht, so ist unschwer zu erkennen, daß der damit beschrittene Weg recht ausgepflastert und fahrbar gemacht worden, aber nur wenig verbessert worden ist. Der erste dürfte etwa Wurtz gewesen sein, der um 1892 herum einen Nährboden veröffentlichte, dessen Prinzip in der Vergärung der Coli-Bazillen durch Milchzucker bestand. Der erste gefärbte Nährboden entstammt, soweit ich die Literatur übersehe, meiner Autorschaft, die merkwürdigerweise zumeist mit Stillschweigen übergangen worden ist. Bereits 1896 habe ich von Erlangen aus im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 29. S. 686 „Ueber die Differenzierung von Coli- und Typhusbazillen auf Harnnährsubstraten“ berichtet und zum Schluß auf S. 694 darauf hingewiesen, daß ein Zusatz von Böhmers Hämatoxylin zu Harnagar „die Typhusbazillen zart, durchsichtig, wie hingehaucht erscheinen ließ, so daß dieselben, durch den Hintergrund des Substrates veranlaßt, in blauer Farbe auftraten,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

während die Coli-Bazillen in bläulich-grauer, undurchsichtiger, fester Auflagerung hervorschossen". Wir sehen hier die oft beobachtete Tatsache erkennbar, daß die pathogene Art in ihren chemischen Leistungen unvermögender, in ihren Lebensfunktionen eingeschränkter als die andere Gruppe ist.

Im Jahre 1902 haben dann v. Drigalski und Conradi eine Kombination des Wurtzschen Milchzuckernährbodens mit reduzierbaren Farbstoffen eingeführt, die sich gut behauptet hat.

Von der großen Anzahl aller im Laufe der Zeit auftretenden Modifikationen hat sich zweifellos am praktischsten der Endo-Agar bewährt, der gleichfalls auf dem Zusatz von Milchzucker zum Nährboden beruht, außerdem noch Fuchsin als differenzierenden Farbstoff enthält. Das Fuchsin (salzsaures Rosanilin) wird durch Reduktionsmittel, wie Natriumsulfit, welche den Säurekomponenten des Rosanilins reduzieren, in eine farblose Verbindung umgewandelt. Durch Bakterien, die Zucker, besonders Milchzucker, unter Säurebildung zerlegen, wird der ursprüngliche Fuchsinton wieder hergestellt.

Fast ausschließlich handelt es sich bei diesen und ähnlichen Untersuchungen um Differenzierungen oder Anreicherungen, und zwar ist den ersteren stets der Vorzug gegeben worden, da die letzteren sich bisher noch nicht bewährt haben. Typhusbakterien zerlegen die Eiweißstoffe und erzeugen alkalisierende Eigenschaften, Coli-Arten greifen die Zuckerarten unter Säurebildung an. Aehnlich ist der Vorgang bei der Verimpfung von Milch mittels Coli- und Typhusbakterien, wobei durch erstere Zucker zerlegt und durch die gebildete Säure Casein ausgefällt wird, gegenüber den sich entgegengesetzt verhaltenden Typhusbazillen.

Alle die zur großen Familie der Typhus-, Paratyphus-, Coli-Gruppe gehörenden Glieder besitzen eine große Zahl übereinstimmender und nur durch eine reiche Auswahl verschiedener Untersuchungsmethoden näher zu bestimmender Eigenschaftsmerkmale. So zeigen beispielsweise die echten Typhusbazillen auf allen Nährböden ein mehr durchscheinendes, zartes Wachstum, ein ähnliches auch die Paratyphusmikroben, ein schmieriges, dickes die Coli-Arten.

Serie I läßt Milchzucker unbeeinflußt, koaguliert auch Milch nicht; Serie II ist hier von ähnlicher Wirkung, Serie III verhält sich aber entgegengesetzt. Die erste Gruppe bildet aus Traubenzucker kein Gas, dagegen die zweite und dritte Gruppe.

Weiterhin sind erstere stark pathogen, die Paratyphusmikroben nur teilweise pathogen, die Coli-Gruppe im allgemeinen avirulent. Auch betreffs der Beweglichkeit ließen sich Unterschiede feststellen, und wenn wir ein exaktes Geißelfärbungsverfahren besäßen, könnte vermutlich auch die Anzahl der Geißeln als Differenzierungsmittel herangezogen werden.

Es ergibt sich aus alledem, daß die Untersuchungsmethoden so gut bzw. so schlecht bewertet werden können, als die Geschicklichkeit oder Uebung des Untersuchers oder die Auswahl und Menge der Untersuchungsmethoden dieses zuläßt. Jedes Verfahren, das gut eingeübt und auf das der Untersuchende eingeschworen ist, ist brauchbar, sofern es einige bestimmte Hinweise zu erkennen gibt. Nur aus der Unzulänglichkeit an solchen stammt hauptsächlich die Veranlassung, immer neue und variable Methoden für die Untersuchung desselben Materials zu suchen und bekannt zu geben. Jeder selbständige Untersucher wird einige Abweichungen einzuführen in der Lage sein, die ihm mehr oder weniger wichtig erscheinen. Der Allgemeinheit freilich ist nicht immer damit gedient.

Ich habe bereits oben meine 1896 veröffentlichte Differenzierung der Coli-Typhusgruppe auf Harnnährsubstraten erwähnt, und, um einen besonderen Fall hier einmal herauszugreifen, kann ich wohl sagen, daß diese Methode, neben den übrigen selbstverständlichen Kautelen, wie die Agglutination, zur Diagnosenstellung ausreicht, wenn die notwendige Uebung erlangt ist. Eine sehr große Anzahl zustimmender Nacharbeiten steht hier (wie wohl auch sonst bei ähnlichen Anlässen) einer kleinen Anzahl sich ablehnend verhaltender gegenüber. Um nur zwei Autoren herauszugreifen, so hat Schütze während des russisch-japanischen Krieges im Jahre 1905 sich mit gutem Erfolge dieser Methode bedient und seine diesbezügliche Arbeit im Jahrg. 1905. No. 47 der Berlin. klin. Wochenschrift niedergelegt, und v. Wassermann schreibt über die guten, mit diesem Verfahren erzielten Resultate in dem „Volksseuchen“ betitelten Vortragszyklus, Jena (Gust. Fischer) 1909, unter: „Der Typhus als Volksseuche“, daß er den von Piorkowski für Typhuszüchtung aus Faeces konstruierten Nährboden nach eigener Erfahrung empfehlen kann. Dieser aus alkalischem Harn von spezifischem Gewicht 1020, $^1/_2$ Proz. Pepton und 3,3-proz. Gelatine bereitete Nährboden (der bei 22° 16—20 Stunden lang gehalten werden soll) zeigt die Typhusbazillen in Form von kleinen, wasserhellen, mit 4—6 rankenförmig angeordneten Ausläufern versehenen Kolonien, während Bact. coli runde, gelbliche Kolonien ohne Ausläufer bildet.

Ja, weitere Arbeiten haben ergeben, daß eine exakte Beobachtung Unterschiede zwischen Paratyphus-, Enteritidis-, Faecalis-Alcaligenes- und Ruhrbakterien erkennen läßt.

Also, um wieder mit v. Wassermann (l. a.) zu sprechen: „Mit einer sicheren Belastungsprobe ist zu erweisen, daß ein Verfahren technisch vollkommen übereinstimmende Resultate in verschiedenen Händen zu liefern imstande ist. Man hat kein Recht, die Zuverlässigkeit einer Methode anzugreifen, wenn nur die Ausführung nicht gleichmäßig zu sein scheint.“ Erst oftmaliges, eingehendes Sichvertrautmachen mit einer Methode kann zu einer Erkenntnis führen, und nur wirklich praktische Abänderungen oder vollkommen neue Wege, die eine einfachere und mehr eindeutige Weise darstellen, berechtigen zu einer Abwehr einer sich bewährenden Methode.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen am Blute von Fleckfieberkranken.

[Aus einem bakteriologischen Laboratorium der .. Armee (Leiter: Stabsarzt Prof. Oettinger).]

Von Dr. **G. Elkeles**, Assistenzarzt der Reserve.

Mit 2 Kurven im Text.

Wie ein sehr beträchtlicher Teil der Literatur über Fleckfieber im allgemeinen erst während des Krieges entstanden ist, so gehören auch die speziellen Mitteilungen über die Blutbefunde beim Fleckfieber vornehmlich der Kriegszeit an. Außer den früheren Arbeiten ausländischer und deutscher Autoren, die sich besonders mit der Aetiologie und experimentellen Uebertragung des Fleckfiebers befassen, findet man in der Vorkriegsliteratur Mitteilungen von Hegler und v. Prowazek (16) und von Rabinowitsch (40) über Blutuntersuchungen beim Fleckfieber. Seitdem ist eine größere Zahl von Befunden mitgeteilt worden. Aber umfassende Darstellungen dieses Spezialgebiets fehlen bisher, und die Ergebnisse der verschiedenen Untersuchungen widersprechen sich vielfach. Zudem sind die Mitteilungen häufig nur ganz kurz, die Untersuchungen wohl oft nicht einwandfrei.

Auch der Umfang dieser Darstellung der Blutbefunde beim Fleckfieber erfährt von vornherein eine Beschränkung insofern, als sie im wesentlichen nur von den Leukocyten handelt. Indes, von den zahlreichen physikalisch-chemischen Untersuchungen des Blutes (wie Stickstoffbestimmungen, Untersuchungen des Blutserums, Bestimmungen der Gerinnungszeit, der Viskosität, der Alkaleszenz u. a. m.) mußte mangels der nötigen Apparatur im Feldlaboratorium abgesehen werden. Für zahlenmäßige Feststellungen an den Blutplättchen fehlten verläßliche Methoden, und eine Mitteilung darüber, ob die Plättchen vermehrt, normal oder vermindert „erschienen“ wären, hieße nur, die in der Literatur schon vorhandenen, aber doch nichts beweisenden Angaben hierüber um eine vermehren. An den Erythrocyten konnten in mehreren 100 Präparaten niemals nennenswerte histologisch-morphologische Veränderungen wahrgenommen werden.

In der Literatur der jüngsten[1]) Zeit vertritt allerdings Bofinger (4) die Ansicht, daß beim Fleckfieber regelmäßig Anisocytose, Poikilocytose und Schistocytose festzustellen sei. Diese Angaben kann ich auf Grund meiner Untersuchungen nicht bestätigen. Ich habe nur leichte Grade von Größen- und Formveränderungen gesehen. Solche findet man aber auch bei Ausstrichpräparaten von normalem Blute. Sie dürften zum allergrößten Teil auf mechanisch-physikalische Ursachen zurückzuführen sein, wie sie beim Ausstreichen, beim Antrocknen usw. der Präparate auf die Zellen einwirken. Jedes in der üblichen Weise von normalem Blut angefertigte Präparat beweist, daß es zum Erscheinen von Größe- und Formveränderungen der Erythrocyten im Blutbilde pathologischer Ursachen nicht bedarf. Wenn Bofinger Anisocytose, Poikilocytose,

---

1) Die Arbeit ist Mitte November 1916 abgeschlossen.

Schistocytose gesehen hat, so meint er damit wohl schwere Veränderungen, wie sie bei Anämieen auftreten. So hohe Grade von Veränderungen habe ich nicht gesehen. Daß sie bei schweren Fällen von längerer Dauer auftreten können, einfach als Ausdruck einer Anämie, ist kaum zweifelhaft. Zum spezifischen Bilde des Fleckfieberblutes gehören sie meines Erachtens nicht.

Die Zahl der von mir ausgeführten Zählungen der Erythrocyten genügt nicht, um aus ihr das gesetzmäßige Verhalten beim Fleckfieber abzuleiten. Indessen läßt sich aus dem eben erwähnten Mangel morphologischer Veränderungen der Schluß ziehen, daß auch das zahlenmäßige Verhalten der roten Blutkörperchen nicht wesentlich von der Norm abweichen kann. Die Berechtigung eines solchen Schlusses ergibt ein Vergleich mit den anderen Infektionskrankheiten, bei denen diese Verhältnisse schon eingehend untersucht sind und bei denen sich nachweisen läßt, daß Abweichungen in der Erythrocytenzahl in der Regel mit histologischen Veränderungen der Einzelzelle einhergehen. Und umgekehrt finden sich da, wo morphologische Veränderungen fehlen, normale oder wenigstens nicht nennenswert abweichende Zahlenwerte. An einigen Beispielen sei dies kurz erläutert: Beim Scharlach berichten Arnheim (3) und Kotschetkoff (25) über — insbesondere bei Kindern — deutliche Verminderung der Erythrocyten; dazu fand Grawitz, der das Blutbild des Scharlachkranken genau studierte, namentlich in schweren Formen, stets basophil punktierte Erythrocyten. Für Sepsis, Eiterungen, Erysipel stellt H. Strauß (47) als Mittelwert 3 Millionen rote Blutkörperchen fest, wozu als morphologisches Verhalten Poikilocytose, basophil punktierte Zellen, Normoblasten und, nach Strauß und Rohnstein (47), sogar Megaloblasten sich gesellen. Bei Malaria, die meist von erheblichem Sinken der Erythrocytenzahl begleitet ist, finden sich reichlich Poikilocyten, Makrocyten, Mikrocyten, basophil punktierte und kernhaltige rote Blutkörperchen; Grawitz (12) stellt in seinem „Lehrbuch der klinischen Pathologie des Blutes“ auf Grund eigener Untersuchungen fest, daß die Zahl der degenerierten Erythrocyten proportional zu der Schwere der Infektion und damit auch proportional zu den anämischen Erscheinungen im Blute gefunden wird. Alle diese Infektionskrankheiten zeigen also das regelmäßige Zusammengehen zahlengemäßer und morphologischer Veränderungen der roten Blutkörperchen. Auf der anderen Seite ist bei denjenigen Infektionskrankheiten, bei denen Abweichungen in der Erythrocytenzahl fehlen, das normale Verhalten des morphologischen Blutbildes auf Grund besonderer Untersuchungen ausdrücklich festgestellt, so insbesondere bei Typhus abdominalis, Masern, Diphtherie, Cholera, Gelenkrheumatismus. Auf einen Nachweis im einzelnen soll jedoch nicht eingegangen werden.

Gewiß ließe sich dieser umständliche Analogiebeweis ersetzen und noch überzeugender gestalten durch Erythrocytenzählungen. Da mir aber, wie erwähnt, eine genügende Anzahl von Auszählungen fehlt, so scheint es mir wichtig, auf diesen regelmäßigen Parallelismus zwischen Zahl- und Gestaltveränderungen der Erythrocyten hinzuweisen, weil dadurch vielleicht verhindert werden kann, daß da oder dort vereinzelt gefundene Abweichungen von der normalen Erythrocytenzahl verallgemeinert und als die Regel beim Fleckfieber bezeichnet werden.

Mithin beschränken sich die weiteren Mitteilungen auf die weißen Blutkörperchen.

Bevor ich meine Befunde mitteile, möchte ich auf einige Tatsachen hinweisen, deren Beachtung unerläßlich ist, wenn zuverlässige Ergebnisse erzielt werden sollen.

1. Auswahl der Fälle und Zeitpunkt der Entnahme.

Um aus vergleichenden Untersuchungen an vielen Kranken die Gesetzmäßigkeit der spezifischen Reaktion des normalen Blutes auf die Fleckfieberinfektion zu erschließen, muß man alle jene physiologischen und pathologischen Beeinflussungen kennen und vermeiden, denen das Blut des Fleckfieberkranken daneben ausgesetzt sein kann. Das für eine Infektion spezifische Blutbild wird man nur zu erkennen vermögen, wenn nicht gleichzeitig noch Nebenbeeinflussungen bestehen, die ihre Wirkung mit der der Infektion im Blute vereinigen. Dazu gehörte als erstes eigentlich immer der Vorversuch, der Nachweis, daß das Blut des Erkrankten vor seiner Erkrankung normale Verhältnisse aufgewiesen hat. Durchführbar ist das in der Tat bei solchen, die sich wegen Erkrankung eines Angehörigen in Quarantäne befinden und im Lazarett erkranken. Freilich auch nur dann, wenn die Untersuchung in einem frühen Inkubationsstadium stattfinden kann, weil sonst schon eine beginnende Beeinflussung durch die Krankheit möglich wäre. So weit braucht man nun im allgemeinen nicht zu gehen, da es ja in der Erhebung der Anamnese eine Möglichkeit gibt, sich ein leidlich zuverlässiges Bild von dem bisherigen Gesundheitszustand des Kranken zu machen und danach Schlüsse auf die Blutbeschaffenheit zu ziehen. Fleckfieberkranke mit einem chronischen Leiden, durch das eine Beeinflussung des Blutbildes wahrscheinlich oder möglich ist, sind vom Untersuchungsmaterial auszuschließen.

Damit ist die Auswahl der zu vergleichenden Untersuchungen geeigneten Kranken noch nicht erschöpft. Der Ablauf der Reaktion des Blutes während des Fleckfiebers kann beeinflußt werden durch Komplikationen wie Bronchopneumonie, Erysipel, Eiterungen, Dekubitus, Nephritis, Myocarditis u. a. m. Zwar wird im Beginn und auf der Fieberhöhe die Beeinflussung des Blutes durch die Infektion so vorherrschend sein, daß Komplikationen nicht das ihnen eigentümliche Blutbild „durchzudrücken“ imstande sein werden. Aber mit der Abnahme des Fiebers und ganz besonders vom Beginn der fieberfreien Zeit an beeinflussen Komplikationen entscheidend die Blutbeschaffenheit des Kranken. Es ist also notwendig, die von Komplikationen begleiteten Fälle zu diesen Blutuntersuchungen nicht zu verwenden. Aus diesem Grunde habe ich mein Material in der Hauptsache unter der polnisch-russischen Bevölkerung gesammelt, weil — im Gegensatz zu den Deutschen — bei ihnen das Fleckfieber fast ausnahmslos ohne Komplikationen verläuft. Zahlen für die Häufigkeit von Komplikationen an einem größeren Material von deutschen Kranken aufzustellen, war mir nicht möglich, weil mir die Krankengeschichten nicht mehr zur Verfügung stehen. Aber die klinische Beobachtung zeigt sicher, daß das Fleckfieber bei Deutschen wesentlich häufiger als bei der polnisch-russischen Bevölkerung von Komplikationen begleitet ist.

Ausgeschaltet von den Untersuchungen müssen sodann Kinder mindestens bis zu 6 Jahren werden. Denn bei der Labilität des kindlichen Blutbildes, das auf Reize unverhältnismäßig stark reagiert [Schilling (45)], ist ein einfacher Vergleich mit den Verhältnissen, wie sie beim Erwachsenen gefunden werden, nicht statthaft.

Die Blutforschung hat uns ferner eine Reihe von Ursachen kennen gelehrt, die auch im Blut des Gesunden eine Veränderung der Leukocytenzahl und der Prozentverhältnisse der einzelnen Leukocytenformen erzeugen und die deshalb gekannt und vermieden werden müssen. An erster Stelle sei die „Verdauungsleukocytose“ genannt. Ein Blick in die Literatur zeigt, daß das Bestehen einer Vermehrung der Leukocyten nach der Mahlzeit keineswegs allgemein anerkannt wird. Zahlreiche Autoren bestreiten eine Vermehrung der Leukocyten nach der Mahlzeit [Grancher (11), Zollikofer (52), Hayem (15), Halla (14), Reinicke (41), Elfer (9)]. Malassez (28) fand sogar Abnahme der Leukocyten, wenn bei der Mahlzeit kein Getränk genommen wurde. Rieder (42) stellte fest, daß eine starke Eiweißzufuhr nötig ist, um eine erhebliche Verdauungsleukocytose zu erzeugen, und daß auch ohne die Verdauung die Leukocytenzahl gewissen Tagesschwankungen unterliegt. Japha (19) sieht in der täglich sich wiederfindenden Vermehrung der Leukocyten eine „periodische Tagesschwankung“, die sich immer um die Mittagszeit findet, auch während des Hungers; ja selbst wenn nach einer Hungerperiode morgens eine eiweißreiche Mahlzeit gereicht wurde, fand sich die Vermehrung der Leukocyten nicht nach dem Frühstück, sondern erst um die Mittagszeit. Auch darüber schwanken die Angaben, welche Arten von Leukocyten vornehmlich vermehrt sind. Nichtsdestoweniger machen neben anderen [1]) die unter der Leitung von E. Grawitz (12) ausgeführten Untersuchungen von Rosenthal und Grüneberg (43) und Keuthe (22) das Bestehen einer Verdauungsleukocytose sehr wahrscheinlich. Dabei soll, je nach der Zusammensetzung der Nahrung, die Hyperleukocytose eine Folge der einseitigen Vermehrung der Lymphocyten oder auch der Neutrophilen sein können. Die Frage der Verdauungsleukocytose ist für die Fieberzeit nicht von sehr wesentlicher Bedeutung, weil die Kranken im allgemeinen nur wenig, nicht sehr gehaltvolle Kost erhalten [2]), die sie dazu noch nicht so sehr zu einer bestimmten Mahlzeit genießen, von der sie vielmehr im Laufe des Tages mit Unterbrechungen ziemlich dauernd kleine Mengen zu sich nehmen. In der Rekonvaleszenz, wo sich Appetit und Nahrungsart und -menge ändern, könnte jedoch die Verdauungsleukocytose eine größere Rolle spielen. Es empfiehlt sich daher, das Untersuchungsmaterial morgens vom nüchternen Kranken oder zu einer anderen unter diesem Gesichtspunkte günstig erscheinenden Zeit zu entnehmen.

Eine nicht zu unterschätzende Beeinflussung erleidet das Blut durch therapeutische Eingriffe aller Art. Viele Herzmittel können bei den großen Mengen, in denen sie zuweilen den Kranken zugeführt werden, die absoluten und Prozentzahlen der Leukocyten erheblich beeinflussen. Nicht alle Mittel sind daraufhin untersucht; bei vielen aber ist ihre Wirkung auf die Leukocytenzahl festgestellt. Kampfer, Digitalis-Präparate, Tinctura chinae, manche ätherische Oele, Antipyrin, Antifebrin und viele gebräuchliche Mittel gehören hierher [E. Grawitz (12), Naegeli (34)].

---

[1]) Japha (19) gibt eine ausführliche Darstellung über „Die Verdauungsleukocytose in der Literatur“, desgleichen Rieder (42) nebst zahlreichen eigenen Untersuchungen.

[2]) Wenigstens bei dem meinen Untersuchungen zugrunde liegenden Krankenmaterial war das der Fall.

Von den physikalisch-therapeutischen Eingriffen ist vor allem der Kälteeinwirkung zu gedenken, wie sie durch die in manchen Lazaretten so viel geübten kalten Bäder hervorgerufen wird. Ich selbst habe mich davon überzeugt, daß durch solche Bäder eine erhebliche vorübergehende Hyperleukocytose hervorgerufen wird. Diese ist vielleicht die Folge eines nach dem Bade vermehrten Blutandranges in die Hautkapillaren. Andererseits hat E. Grawitz (12) festgestellt, daß „unmittelbar nach der Einwirkung der kalten Bäder das spezifische Gewicht des Blutes erheblich stieg, der Wassergehalt des Blutes sich also verminderte“. Danach könnte die Hyperleukocytose auch eine Folge der Eindickung des Blutes sein. Aus allen diesen Gründen ist Grawitz (12) beizustimmen, wenn er sagt: „In den verschiedenen Krankenanstalten sind eben die Grundbedingungen durch die verschiedenartige Diät und Medikation oft grundverschieden voneinander, und hierdurch erklären sich bei voller Exaktheit des einzelnen Untersuchers die auffälligen Differenzen der Resultate.“ Auch in diesem Punkte war es wieder die Besonderheit meines Materials, die mühelos eine Ausschaltung der durch die Heilmittel und physikalische Therapie gegebenen Fehlerquelle ermöglichte, da nämlich die polnische Bevölkerung bei dem meist leichten Verlauf der Erkrankung lediglich mit Ruhe und Diät behandelt wurde.

Auch die von Grawitz (12) beschriebene „myogene Leukocytose“, d. h. eine durch Muskelanstrengungen erzeugte Vermehrung der Gesamtleukocyten, speziell der Lymphocyten, ist zu beachten; ebenso die von Hasselbach und Heyerdahl (17) beobachtete „statische Leukocytenreaktion“, nach der „beim Wechsel vom Liegen zum plötzlichen Stehen und umgekehrt eine schnell vorübergehende Hypo- bzw. Hyperleukocytose bis 100 Proz.“ entstehen kann. Man wird demgemäß einer für den geschwächten Kranken unter Umständen sehr anstrengenden Untersuchung nicht die Entnahme einer Blutprobe anschließen, desgleichen nicht bei unruhigen Kranken, die ihr Lager verlassen haben, allzu unmittelbar nachdem sie ins Bett zurückgebracht sind.

Die selteneren Formen der Leukocytose (wie Schwangerschaftsleukocytose, posthämorrhagische, kachektische, agonale Leukocytose) erwähne ich, gehe jedoch nicht näher auf sie ein.

Ueberblickt man die Fülle der pathologischen und physiologischen Ursachen, durch die das wahre Bild des Fleckfieberblutes verschleiert werden kann, so ergibt sich als Forderung, daß die „Versuchsbedingungen“ nach Möglichkeit genau gleich genommen werden müssen, zumal da es wahrscheinlich ist, daß alle Fehlerquellen, die durch Unterschiede in den Versuchsbedingungen entstehen können, uns noch nicht bekannt sind.

2. Die Ermittelung des Krankheitsstadiums.

Große Schwierigkeiten macht häufig die genaue Feststellung des Krankheitsbeginns und damit des Stadiums der Erkrankung, in dem die Blutentnahme erfolgt. Dabei ist sie für vergleichende Untersuchungen von größter Wichtigkeit. Nur selten kommen die Kranken gleich zu Beginn ins Krankenhaus. Für die Feststellung des ersten Krankheitstages ist man daher meist auf ihre subjektiven Angaben und Vermutungen angewiesen; keineswegs in allen Fällen wird man so zuverlässige Angaben erhalten, daß eine einigermaßen sichere Feststellung möglich ist. Ganz sicher ist diese, wenn der Erkrankte sich schon vor seiner Erkrankung wegen eines Fleckfieberfalles in seiner Umgebung „zur Beobachtung“ im Lazarett befindet.

Nur allzu oft aber ist eine sichere Feststellung nicht möglich. In dieser Schwierigkeit kann eine Beobachtung weiterhelfen, die ich an zahlreichen Kranken machte: es fiel mir auf, daß in den meisten Fällen von unkompliziertem Fleckfieber die Fieberperiode neben einer in ihrem Aussehen sehr ähnlichen Kurve eine auffallende Uebereinstimmung in ihrer Dauer zeigt.

Um diese Frage besonders zu prüfen, habe ich nicht nur die Kurven der eigenen Fälle, sondern eine große Anzahl von Fieberkurven verschiedener Lazarette und verschiedener Fleckfieberepidemien daraufhin verglichen[1]). Und zwar wurde eine sorgfältige Auswahl derjenigen Fälle getroffen, bei denen hinlänglich Grund vorhanden war, die Angaben der Kranken als zuverlässig anzusehen, oder bei denen der Beginn der Krankheit vom Arzte selbst beobachtet worden war. Dabei zeigte sich, daß in der überwiegenden Mehrzahl der unkomplizierten Fälle die Entfieberung um den 14. Tag erfolgte, d. h. daß meist der 14. Tag der erste ganz fieberfreie war, nach dem keine Steigerung über 37° mehr eintrat (vorübergehende Werte unter 37° werden bei einem unter starken Tagesschwankungen abfallenden Fieber nicht selten beobachtet). Freilich, wie nicht anders zu erwarten ist, finden sich auch Abweichungen von diesem Verhalten (Kinder!), ohne daß es immer gelingt, die Ursache dafür nachzuweisen. Nichtsdestoweniger glaube ich es als Regel bezeichnen zu können, daß in unkomplizierten Fällen von Fleckfieber beim Erwachsenen die Fieberperiode um den 14. Tag beendet ist. Es ist also auf Grund der Regelmäßigkeit der Fieberdauer aus der genauen Feststellung des Entfieberungstages ein vorsichtiger Rückschluß auf den Krankheitsbeginn und damit auf das Stadium möglich, in dem eine Untersuchung des Blutes erfolgt ist.

Nach Abschluß meiner Untersuchungen entnehme ich den „Verhandlungen der außerordentlichen Tagung des Deutschen Kongresses für innere Medizin in Warschau 1916“, daß Munk (32) im wesentlichen die gleichen Beobachtungen über die Dauer der Fieberperiode gemacht hat. Munk geht sogar noch weiter; er äußerte: „Die Dauer der Fieberperiode ist nach meinen Erfahrungen prinzipiell in allen Fällen annähernd einheitlich und richtet sich keineswegs nach der Schwere der Krankheitssymptome. Selbst bei Kindern, die ja bekanntlich das Fleckfieber oft überaus leicht, gewissermaßen ambulatorisch durchmachen, läßt sich bei genauer Untersuchung stets eine Fieberperiode von 12 bis 14 Tagen feststellen. Diese Einheitlichkeit der Dauer ist das Charakteristikum des Fiebertypus bei der Fleckfiebererkrankung." Auch Lipschütz (27) fand ganz ähnliche Werte für die Fieberdauer.

---

[1]) Für die Ueberlassung des Materials weiß ich großen Dank den Herren Assistenzarzt Dr. Jessner und Dr. Harms vom Städtischen Seuchenhaus in N., Herrn Stabsarzt Sigel, dem Leiter der Seuchenabteilung eines Feldlazaretts, Herrn Oberstabsarzt Nordt und Herrn Stabsarzt Zimmermann vom Seuchenlazarett einer Kriegslazarettabteilung.

Trotzdem habe ich in meinen Untersuchungen den Zeitpunkt der einzelnen Untersuchung zunächst auf den Termin der Entfieberung bezogen, weil dieser fast ausnahmslos genau festgelegt werden kann. Von der nachträglichen Berechnung des Krankheitsstadiums, das im einzelnen Falle vorliegt, mache ich dann folgenden Gebrauch: Wenn sich nach Ablauf eines Falles z. B. zeigt, daß eine Untersuchung am 14., 13. oder 12. Tage vor der Entfieberung stattgefunden hat, so nehme ich an, daß diese Untersuchung in den Krankheitsbeginn fällt, und verwerte das Ergebnis in diesem Sinne. Entsprechende Schlüsse lassen sich — stets mit genügender Vorsicht! — auf die Untersuchungen aus den anderen Fieberstadien ziehen.

3. Technik der Entnahme, Färbung und Zählung.

Da alle Maß- und Zählmethoden in der Hämatologie auch bei aller Genauigkeit in der Handhabung ihre Fehlergrenzen haben, die bei ungenügender Sicherheit und Sorgfalt des Untersuchers ins Unberechenbare wachsen, war ich bemüht, aufs peinlichste alle Forderungen zu erfüllen, die nach den Erfahrungen der Blutforschung für die Ausführung aller Methoden erhoben worden sind. Eine Beschreibung der angewandten Technik bis in alle Einzelheiten wäre nur eine Wiedergabe dessen, was in den großen Lehrbüchern über die Technik der Blutuntersuchung gesagt ist. Daher beschränke ich mich auf diejenigen Angaben, die nach meiner Ueberzeugung für die Beurteilung der Befunde nicht fehlen dürfen, und füge einige Erfahrungen hinzu, die mir erwähnenswert erscheinen.

Die Entnahmen erfolgten mit wenigen Ausnahmen (Fälle, in denen bei leichtem Einstich kein Blut kommen wollte, schwielige Arbeiterhände) aus der Fingerkuppe. Benutzt wurde der Frankesche Schnepper. Dieser ist nicht, wie Pappenheim (37) angibt, zu verwerfen, sondern als schonendstes Instrument zu empfehlen. Nicht das Instrument ist „barbarisch" [Pappenheim (37)], sondern der, welcher „bis auf das Fingerperiost" durchstößt, was sich mühelos und sicher vermeiden läßt. Wenn die Spitze des Schneppers zu breit ist und dadurch zu große Blutstropfen setzt, läßt sie sich von der Seite beliebig schmal schleifen.

Zur Feststellung der absoluten Leukocytenzahlen wurden nie weniger als 3 Tropfen der Mischflüssigkeit untersucht. Differierten 2 Zählungen erheblich, so wurden entsprechend mehr Zählungen ausgeführt. Als Mischflüssigkeit empfiehlt Pappenheim (37) sehr zu Recht eine hoch-(5-)prozentige Essigsäurelösung, da diese die Leukocyten sicher nicht schädigt, dagegen die Erythrocyten viel durchsichtiger macht als die stärker verdünnten Lösungen von Naegeli (34), Grawitz (12), Schilling (45) (0,3—1-proz.).

Wichtig ist die Schillingsche (45) Forderung, mit der Zählung zu warten, bis alle Zellen „sich auf den Boden der Kammer gesenkt haben und ebenso scharf einstellbar sind wie das Netz".

Für die Anfertigung der Blutausstriche ist es vorteilhaft, ein Mikroskop in den Krankensaal mitzunehmen. Man kann sich dann durch sofortige Betrachtung der luftgetrockneten ungefärbten Präparate überzeugen, ob die Ausstriche gelungen sind, vor allem die weißen Blutkörperchen gleichmäßig verteilt sind, um gegebenenfalls alsbald (eventuell aus derselben Einstichstelle) neue Präparate anfertigen zu können. Versäumt man das und stellt erst beim Färben und Auszählen fest, daß die Abstriche mißlungen sind, so ist oft ein wichtiger Zeitpunkt der Krankheit und des betreffenden Falles endgültig für die Beurteilung verloren.

Die Ausstrichpräparate wurden einheitlich nach dem „kombinierten May-Giemsa-Verfahren von Pappenheim“ gefärbt, das alles Lob verdient; bei gleicher Beschaffenheit der Farblösungen und genauer Befolgung der Färbezeiten liefert sie sehr gleichmäßige Resultate. Nicht empfehlenswert erschien mir die Entfärbung überfärbter Präparate in Alkohol und das Auswaschen von Niederschlägen in essigsaurem Wasser — wie es Pappenheim (37) vorschlägt —, weil es sehr unsicher ist, ob man den richtigen Grad der Entfärbung trifft, und weil so leicht das Gegenteil, eine zu starke Entfärbung, eintritt. Diese aber ist viel bedenklicher als die Ueberfärbung, da wichtige Bestandteile unsichtbar werden, namentlich die Granula der Leukocyten, und auch die Konturen der Zellkerne leiden.

Zur Aufstellung der sogenannten Leukocytenformel, d. h. des Prozentverhältnisses der einzelnen Leukocytenformen, wurden mindestens dreimal je 100 Leukocyten ausgezählt. Wich eine Zählung von den anderen nennenswert ab, so wurden weitere Zählungen vorgenommen. Mit Recht wird im allgemeinen die Mitbenutzung der Randzone und der Zellanhäufungen in den Ausziehstrichen am Ende des Präparates für die Feststellung der Prozentverhältnisse verworfen. Trotzdem sollte ihre Durchsicht nie versäumt werden, einmal weil auch in guten Präparaten gerade in diese Teile gewisse, besonders die großen Leukocytenformen mehr als die anderen beim Ausstreichen zu gelangen pflegen; dadurch werden offenbar ihre Prozentwerte im übrigen Präparat geringer gefunden, als ihrer wahren Zahl entspricht. Sodann bedeutet die Durchsicht dieser Ansammlungsstellen eine große Erleichterung für die Auffindung seltener Formen und die Aufstellung ihres Prozentverhältnisses; hierbei ist jedoch nur an die Formen gedacht, die trotz der Verzerrung, die die Zellen in den Ansammlungsstellen erleiden, sicher identifiziert werden können: namentlich die Eosinophilen, Basophilen, Türkschen Reizformen und — mit Einschränkung — die großen Mononukleären. Für die Aufstellung ihrer Prozentwerte wurden daher außer den üblichen Zählungen stets auch noch einige „Randzählungen“ besonders vorgenommen.

Dieser Hinweis auf die **Fehlerquellen,** mit denen alle hämatologischen Studien zu rechnen haben, der keineswegs erschöpfend ist, noch überhaupt sein kann, wird genügen, um darzutun, wie schwer es ist, das gesetzmäßige Verhalten der Reaktion des normalen Blutes auf die Infektion mit dem unbekannten Fleckfiebervirus festzustellen. Bei einer trotz mühevollster und langwierigster Studien in ihrem Wesen noch so ungeklärten Wissenschaft, wie die Hämatologie ist, erscheint äußerste Zurückhaltung bei der Beurteilung der Befunde am Platze, namentlich wenn es sich um die Erforschung einer Krankheit handelt, deren Wesen und Erscheinungen zu ergründen unsere Wissenschaft eben erst sich anschickt. Wenn überhaupt, so wird nur bei vorsichtiger Zurückhaltung im Urteil das Studium des Blutes beim Fleckfieber ähnlich wertvolle Aufschlüsse für die Erkennung und Erforschung der Krankheit liefern können, wie sie die Blutuntersuchung bei so mancher anderen Krankheit erbracht hat.

Unter Anwendung einer Technik, die die Ergebnisse aller bisher gesammelten Erfahrungen berücksichtigt, untersuchen wir heute die weißen Blutkörperchen

a) auf ihre absolute Zahl in 1 cmm,
b) auf das Prozentverhältnis der einzelnen Zellformen (Aufstellung der Leukocytenformel),
c) auf das Vorkommen blutfremder Zellen und auf Veränderungen der Einzelzelle.

Dieser Einteilung entsprechend, sollen im folgenden die Ergebnisse meiner Untersuchungen mitgeteilt und mit den Befunden anderer Untersucher verglichen werden.

A. Die absoluten Zahlen der weißen Blutkörperchen.

Die in der Literatur zu findenden Angaben über die absoluten Zahlen der weißen Blutkörperchen beim Fleckfieber weichen nicht unerheblich voneinander ab. Die ersten Mitteilungen stammen von Tumas (49) und Klein (23), die bei je einem Falle von Fleckfieber tiefnormale und subnormale Werte fanden. Hegler und v. Prowazek (16) beobachteten, daß die Zahl der Leukocyten meist erhöht ist. Zahlen von 8000—10000—12000 bilden in der 1. und 2. Woche die Regel; freilich gibt es auch Ausnahmen: 3000—4000 Leukocyten sind zwischen dem 3. und 7. Krankheitstage nicht ganz selten. Anders lauten die Ergebnisse von Rabinowitsch (40). Er fand die Leukocyten in den ersten Tagen meist vermindert; allmählich steigt ihre Zahl über die Norm hinaus, um nach der Krisis die Norm wieder zu erreichen. In 4 von ihm am 2. und 3. Krankheitstage untersuchten Fällen fand er 1800—3600 Leukocyten und meint, daß Abweichungen von dieser Regel in einigen Fällen „auf Komplikationen, auf individuelle Besonderheiten und verschiedene Pathogenität des Fleckfiebererregers" zu beziehen seien. Eine Bestätigung finden diese Angaben durch die Befunde von Lindner (26), der anfangs Leukopenie, später (für die 2. Krankheitswoche) Leukocytose bis 22100 feststellte. Holler (18) fand hochgradige Gesamtleukocytose bis zu 30000 meist erst zur Zeit des Abklingens des Krankheitsprozesses. Boral (5) ist der Ansicht, daß Leukopenie ganz sicher gegen Fleckfieber spräche. Achelis (1) fand Leukocytose als Regel, desgleichen Schittenhelm (46). Grober (13) gibt an, beim Fleckfieber nie Leukopenie gefunden zu haben. Zeller (51) fand Werte zwischen 12000 und 18000. Ueber eine große Anzahl von Zählungen verfügt Matthes (30). Unter 55 Fällen fand er 34mal über 10000 Leukocyten, meist zwischen 10000 und 15000, 3 Fälle darunter mit 20000 (bis 25000); diese 3 Fälle waren sehr schwer, 2 von ihnen verliefen tödlich. 8mal fand er zwischen 7000 und 10000, 10mal zwischen 5000 und 7000, 2mal zwischen 4000 und 5000, „in rund 80 Proz. aller Zählungen also mäßige Leukocytose". Zahlen unter 4000 sah er nie[1]).

Bevor ich von meinen eigenen Untersuchungen berichte, glaube ich, einige nicht ganz einheitlich gebrauchte Begriffe festlegen zu sollen.

Die Anwendung der Bezeichnungen „Vermehrung" und „Verminderung" der Leukocyten verlangt zuvörderst die Feststellung, in welcher Menge die weißen Blutkörperchen im normalen Blut gefunden werden. Ueber die Höhe dieser Zahl herrscht keineswegs volle Einigkeit.

---

[1] Es muß besonders hervorgehoben werden, daß die niedrigen Werte nicht nur sehr selten waren, sondern daß Matthes selbst sehr gewichtige Gründe dafür anführt, daß in diesen Fällen gleichzeitig Nebenbeeinflussungen bestanden oder nicht sichere Fleckfieberfälle vorgelegen haben dürften.

Naegeli (34) nimmt 6000—7000 als normale Werte an, Strümpell (48) 6000 bis 8000, Morawitz (31) 5000—6000 nüchtern (Schwankungen kommen auch normalerweise vor). Rieder (42), der eine Uebersicht über die Untersuchungsergebnisse zahlreicher Autoren zusammengestellt hat, fand als untere Grenze 5000, als obere 10000; sein Mittelwert beträgt 7680 weiße Blutkörperchen im Kubikmillimeter. Pappenheim (37) gibt ebenfalls 5000—10000 als normale Werte an. Schilling (45) zieht die Grenzen zwischen 6000 und 8000. Demgemäß spricht er bei über 8000 Leukocyten schon von Hyperleukocytose.

Man sieht: dort, wo noch keine volle Einigkeit über die Begriffe ist, können Namen leicht zu Irrtümern führen. Daher erscheint es am sichersten, die Zahlenwerte stets hinzuzusetzen und, statt von mäßiger, starker usf. Hyperleukocytose zu sprechen, — beispielsweise — zu sagen: es besteht eine „Hyperleukocytose von 12000—15000“. Dann sind Mißverständnisse ausgeschlossen.

Auch der Begriff der Leukocytose bedarf einer Festlegung. Grawitz (12) will ihn nach dem Vorgang Virchows für den Zustand der Gesamtleukocytenvermehrung beibehalten und verwirft den Namen Hyperleukocytose hierfür. Andere Autoren teilen aus guten Gründen diese Ansicht nicht. Pappenheim (37) bezeichnet die Vermehrung mit Hyperleukocytose und versteht „unter Leukocytose im hämatologischen Sinne die Summe der leukocytären Blutveränderungen infolge funktioneller und plastischer Reizung des Lymphocyten- oder Leukoblasten-Apparates. Ihr Begriff und Wesen wird in den Symptomen durch eine einfache relative oder gar absolute Zellvermehrung nicht umfaßt und erschöpft. Hyperleukocytose ist vielmehr nur ein Partialsymptom dieses Symptomenkomplexes.“ Auch Schilling (45) wendet beide Bezeichnungen für verschiedene Begriffe an und sagt: „Unter Leukocytose ist heute die Gesamtheit aller Veränderungen der Leukocyten des kreisenden Blutes zu verstehen, soweit sie noch nicht hyperplastische (leukämische) Grade erreichen.“ — Es erscheint daher zweckmäßig, den Zustand der absoluten Leukocytenvermehrung mit „Hyperleukocytose“ zu bezeichnen.

Ich habe meine Untersuchungen über das Blut beim Fleckfieberkranken im Mai 1915 begonnen und nach einer Unterbrechung von einigen Monaten im Frühjahr 1916 wieder aufgenommen und bis jetzt fortgeführt. Leider ist das anfangs gesammelte Material bei der mehrfachen und unter schwierigen Verhältnissen erfolgenden Ortsveränderung des Laboratoriums in Verlust geraten, so daß ich zwar die Ergebnisse noch ungefähr in Erinnerung habe, aber keine genauen zahlenmäßigen Angaben machen kann. Ich verfüge daher jetzt noch über die Befunde von 20 Kranken, die ich fortlaufend untersucht, und 40 Kranken, von denen ich in den verschiedensten Stadien der Krankheit Stichproben entnommen habe. Auch dieses Material ist später noch ein wenig zusammengeschrumpft durch kleine Streichungen, die vorgenommen werden mußten. So traten in vereinzelten Fällen, nachdem die Untersuchung eingesetzt hatte, Komplikationen ein, die das Blutbild beeinflußten, oder durch die jedenfalls die Möglichkeit einer Beeinflussung nicht auszuschließen war.

Was nun die absoluten Leukocytenzahlen betrifft, so sei als wichtigstes Ergebnis hervorgehoben, daß ich, im Gegensatz zu Rabinowitsch (40) und Lindner (26), niemals im Beginn eine echte Leukopenie, Werte unter 5000 oder gar unter 4000, fand. Wohl habe auch ich Fälle gefunden, bei denen die im Beginn der Krankheit gezählten absoluten Leukocytenwerte relativ niedrig — einmal sogar nur 5000 — waren und im Verlaufe der Krankheit eine Steigerung erfuhren; die Zählungen aus den ersten Krankheitstagen ergaben aber nie eine Leukopenie, wie überhaupt keine der ausgeführten Zählungen weniger als 5000 Leukocyten ergab.

Es lag am nächsten, die ganze Fieberperiode einzuteilen etwa in Beginn, Mitte und Ende, die Zahlenwerte der einzelnen Stadien untereinander zusammenzustellen und ihren Durchschnitt zu berechnen. Dieser Versuch wurde aber als unzweckmäßig alsbald aufgegeben. Denn irgend ein gesetzmäßiges Verhalten der absoluten Leukocytenzahlen nach dem Stadium der Fieberzeit war nicht festzustellen; vielmehr schwankten bei den einzelnen Fällen die Werte im Verlauf des Fiebers ohne Regel in ähnlicher Weise nach oben und unten, wie dies auch im normalen Blute beobachtet wird. Berechnet man einen Mittelwert für die Fieberperiode schlechthin und ebenso einen Durchschnittswert aller Zählungen aus den ersten 2—3 Wochen der Rekonvaleszenz, so zeigt sich, daß auch diese Mittelwerte keine wesentliche Differenz ergeben. Die Durchschnittszahl der Leukocytengesamtmenge im Kubikmillimeter betrug während des Fiebers 8500, während der ersten Rekonvaleszenzwochen 7400. Ein etwas anderes Bild erhält man, wenn man die Durchschnittsberechnung durch eine andere Berechnung ersetzt: Es ergaben nämlich von den Zählungen aus der Fieberperiode

26	Proz.	10 000—16 000	Leukocyten
32	„	8 000— 9 900	„
42	„	5 000— 7 900	„

Demgegenüber wurden in der Rekonvaleszenz in

5	Proz.	10 000—16 000	Leukocyten
37	„	8 000— 9 900	„
58	„	5 000— 7 900	„

gefunden. Ein deutlicher Unterschied besteht also, allerdings nur insofern, als die Häufigkeit hyperleukocytotischer Werte von 26 Proz. im Fieber auf 5 Proz. in der Rekonvaleszenz sinkt.

Besondere Erwähnung verdient ein Fall, der die Verhältnisse im Blut des Fleckfieberkranken vom Inkubationsstadium bis in die Rekonvaleszenz zu verfolgen gestattete. Es handelt sich um einen in Fleckfieberquarantäne befindlichen Knaben A. W. (Fall 29). Am Abend des 6. Tages nach seiner Einlieferung stieg die Temperatur, die bisher um 36,6° geschwankt hatte, auf 38,9° und hielt sich 6 Tage lang annähernd auf dieser Höhe, um dann wieder dauernd unter 37° zu bleiben[1]). Das mit starkem und typischem Exanthem begleitete Fleckfieber verlief ganz leicht. Die 1. Zählung fand am Tage nach der Einlieferung, also noch während der Inkubationszeit, bei normaler Temperatur am 4. Tage vor Beginn der Krankheit statt; die 2. Zählung erfolgte, bald nachdem das plötzliche Fieber eingesetzt hatte, die 3. am 2. Tage vor der Entfieberung. Zählung 1 ergab 7000, Zählung 2 13 600, Zählung 3 8000 Leukocyten. Einen 2. Fall, der sich so unmittelbar im Beginn der Krankheit zur Untersuchung geboten hätte, habe ich nicht gefunden.

---

1) Dieser 7-jährige Knabe bildet also bezüglich der Fieberdauer eine Ausnahme von der oben erwähnten Regel und steht insbesondere zu den Angaben von **Munk** (s. S. 265) im Gegensatz.

Das Interessante an diesem Falle ist vor allem die deutliche Steigerung der Leukocytenzahl am 1. Krankheitstage, die dann wieder zurückging. Nur wird leider die Bedeutung dieses Falles durch seine Einzahl beeinträchtigt.

Zusammenfassend ergibt sich also für die absoluten Leukocytenzahlen folgendes:

Der Beginn der Erkrankung ist — besonders auch unter Berücksichtigung der Befunde von Hegler und Prowazek (16) und Matthes (30) — wahrscheinlich durch einen Anstieg über die normalen Leukocytenwerte des Erkrankten gekennzeichnet (geringe Hyperleukocytose um 10—15000). Sicher wird sich das jedoch erst bei der Bestätigung durch andere — so wie mein Fall 29 — im unmittelbaren Krankheitsbeginn zur Beobachtung gekommene Fälle feststellen lassen. Im übrigen findet man, um sich der Schillingschen (45) Ausdrucksweise zu bedienen, in den absoluten Gesamtleukocytenzahlen beim Fleckfieber Werte, die eine „Tendenz zur oberen Grenze des Normalen“ zeigen.

Nicht versäumen möchte ich, darauf hinzuweisen, daß die in mancher Beziehung so vorteilhafte Besonderheit meines Materials inbezug auf die absoluten Zahlen folgendes zu bedenken gibt: eine Anzahl von Untersuchungen deutet darauf hin, daß zwischen der Höhe der absoluten Zahlen und der Schwere des klinischen Bildes ein Zusammenhang bestehen könnte, sei es, daß, wie Matthes (30) beobachtete, die schweren Fälle mit besonders hohen Gesamtzahlen verlaufen, sei es, daß die entgegengesetzte Ansicht von Lindner (26) und Munk (33) richtig ist, daß gerade niedrige Zahlen die schweren Fälle begleiten und von prognostisch ungünstiger Bedeutung sind. Sollte sich das bestätigen, dann könnten die einseitigen Zählungen bei der polnischen Bevölkerung, bei der das Fleckfieber klinisch erheblich leichter aufzutreten pflegt, als im allgemeinen bei den Deutschen, andere Werte liefern, als bei Zugrundelegung eines Materials von durchweg klinisch sehr schweren Fällen.

B. Das Prozentverhältnis der einzelnen Zellformen.

(Leukocytenfomel.)

In der Frage des Prozentverhältnisses der einzelnen Leukocytenformen findet man gute Uebereinstimmung in den Mitteilungen der Autoren. Danach besteht im Beginn der Krankheit eine Vermehrung der neutrophilen Leukocyten, die mehr oder weniger rasch abnimmt, unter entsprechender Zunahme der Lymphocyten, bis zu einer beträchtlichen Lymphocytose und Neutropenie in der Rekonvaleszenz [Hegler und v. Prowazek (16), Rabinowitsch (40), Matthes (30), Dorendorf (7)]. Die Eosinophilen fehlen im Anfang, finden sich allmählich wieder und steigen an, bis in der Rekonvaleszenz eine deutliche Eosinophilie festzustellen ist [Matthes (30), Schittenhelm (46), Holler (18)]. Nur Zeller (51) fand abweichend von diesen Autoren „bei äußerst vorsichtigem Ausstreichen des Blutes keine polynukleäre Leukocytose, sondern Verminderung (60—70 Proz.), Lymphocyten 25 Proz.“

Von einer Beschreibung und Charakterisierung der einzelnen normalen Leukocytenarten kann bei der Uebereinstimmung in der Nomenklatur abgesehen werden.

Zeigen die absoluten Leukocytenwerte im normalen Blute ein vielfach schwankendes Verhalten, so ist die prozentuale Zusammensetzung der Blutleukocyten normalerweise viel konstanter. Nach den Untersuchungen von Ehrlich (8) und Einhorn betragen die Neutrophilen ca. 65—70 Proz., die Lymphocyten 25 Proz., die Uebergangs- und eosinophilen Formen 5—10 Proz. aller Leukocyten. Aehnlich lauten die Angaben Schillings (45). Pappenheim (37) zählt:

Lymphocyten		ca.	20—22	Proz.
Monocyten		„	2—6	„
Polynukleäre	Neutrophile	„	73—75	„
„	Eosinophile	„	2—4	„
„	Mastzellen	„	0—1	„

Aus den von mir fortlaufend untersuchten Fällen führe ich zunächst eine Anzahl ausführlicher an. Die anderen und eine Anzahl Einzelzählungen finden sich in der Lymphocytentabelle weiter unten und in der dem nächsten Abschnitt beigegebenen Tabelle.

Fall 29. In diesem schon genannten Fall ergab die Zählung aus der Inkubation

Eosinophile L.	1	Proz.
Basophile L.	0	„
Neutrophile L.	67	„
Lymphocyten	27	„
Monocyten	5	„ 1)

Nach Ausbruch der Krankheit, die eine Fieberdauer von 7 Tagen hatte, fanden sich:

am 1. Krankheitstag			2. T. v. d. E.	5. T. n. d. E.	9. T. n. d. E.
Eosinophile L.	Proz.	1	1	1	4
Basophile L.	„	0	0	0	0
Neutrophile L.	„	84	65	58	33
Lymphocyten	„	11	31	35	56½
Monocyten	„	4	3	6	6½

Fall 36. J. T. 22 Jahre.

		12. T. v. d. E.	11. T. v. d. E.	10. T. v. d. E.	8. T. v. d. E.	3. T. v. d. E.	Tag der Entfieb.	6. T. n. d. E.
Eosinophile L.	Proz.	0	0	0	0	½	3½	2
Basophile L.	„	0	0	0	0	0	0	0
Neutrophile L.	„	91	98	84	85½	64½	50½	47
Lymphocyten	„	9	2	15	12	33	44	44
Monocyten	„	0	0	1	2½	2	2	7

Fall 37. S. B. 18 Jahre.

		13. T. v. d. E.	11. T. v. d. E.	4. T. v. d. E.	3. T. v. d. E.	1. T. n. d. E.	7. T. n. d. E.	16. T. n. d. E.
Eosinophile L.	Proz.	½	0	1	1½	½	½	2
Basophile L.	„	0	0	0	0	0	0	0
Neutrophile L.	„	79	79	76	60	64½	49½	46
Lymphocyten	„	18	16	22	35	31½	48	47
Monocyten	„	2½	5	1	3½	3½	2	5

---

1) 1. Werte unter ½ Proz. sind als 0 Proz. eingetragen. — 2. T. v. d. E. = Tag vor der Entfieberung, T. n. d. E. = Tag nach der Entfieberung. — 3. Unter „Monocyten“ sind aufgeführt die sogenannten großen Mononukleären und die Uebergangszellen (Ehrlich).

Fall 41. H. K. 12 Jahre.

		8. T. v. d. E.	4. T. v. d. E.	2. T. v. d. E.	2. T. n. d. E.	9. T. n. d. E.
Eosinophile L.	Proz.	0	1	4	4	½
Basophile L.	„	0	0	0	0	0
Neutrophile L.	„	79	73	68	38	44½
Lymphocyten	„	20	22½	27	56	51½
Monocyten	„	1	3½	1	2	3½

Fall 32. A. B. 16 Jahre.

		2. T. v. d. E.	3. T. n. d. E.	8. T. n. d. E.	13. T. n. d. E.	18. T. n. d. E.
Eosinophile L.	Proz.	½	1	½	½	2
Basophile L.	„	0	1	0	0	0
Neutrophile L.	„	67	65	49½	56	37
Lymphocyten	„	29	30	44½	40½	58
Monocyten	„	3½	3	5½	3	3

Fall 43. A. D. Alter?

		10. T. v. d. E.	6. T. v. d. E.	4. T. v. d. E.	Tag der Entfieberung
Eosinophile L.	Proz.	0	0	0	2½
Basophile L.	„	0	0	0	0
Neutrophile L.	„	64	74	61	51
Lymphocyten	„	30	25	37	39½
Monocyten	„	6	1	2	7

Fall 45. J. M. 19 Jahre.

		8. T. v. d. E.	6. T. v. d. E.	4. T. v. d. E.	6. T. n. d. E.
Eosinophile L.	Proz.	0	0	0	1
Basophile L.	„	0	0	0	0
Neutrophile L.	„	57½	64½	40	43
Lymphocyten	„	39	29½	58	52
Monocyten	„	3½	6	2	4

Fall 47. J. P. 19 Jahre.

		11. T. v. d. E.	9. T. v. d. E.	7. T. v. d. E.	3. T. n. d. E.
Eosinophile L.	Proz.	1½	1	0	½
Basophile L.	„	0	0	0	0
Neutrophile L.	„	58½	46½	53	38
Lymphocyten	„	35	46	41½	57
Monocyten	„	5	6½	5½	4½

Fall 31. T. K. 8 Jahre.

		8. T. v. d. E.	3. T. n. d. E.	9. T. n. d. E.	13. T. n. d. E.
Eosinophile L.	Proz.	½	1	½	1
Basophile L.	„	0	0	0	0
Neutrophile L.	„	67½	50	41	42
Lymphocyten	„	28	43	56½	53
Monocyten	„	4	6	2	4

Fall 33. K. S. 16 Jahre.

	5. T. v. d. E.	5. T. n. d. E.	10. T. n. d. E.
Eosinophile L. Proz.	½	0	0
Basophile L. „	0	0	0
Neutrophile L. „	74½	65	56
Lymphocyten „	23½	32	42
Monocyten „	1½	3	2

Fall 35. L. O. 20 Jahre.

	3. T. v. d. E.	3. T. n. d. E.	11. T. n. d. E.	18. T. n. d. E.
Eosinophile L. Proz.	0	½	1	3
Basophile L. „	0	0	1	1
Neutrophile L. „	67½	40	46	36
Lymphocyten „	27	56½	49	58
Monocyten „	5½	3	3	2

Fall 46. J. K. 21 Jahre.

	7. T. v. d. E.	5. T. v. d. E.	3. T. v. d. E.	7. T. n. d. E.
Eosinophile L. Proz.	0	1	3½	½
Basophile L. „	0	0	0	0
Neutrophile L. „	56	46	39½	47½
Lymphocyten „	39	48	51	46
Monocyten „	5	5	6	6

Fall 48. S. T. 18 Jahre.

	9. T. v. d. E.	1. T. n. d. E.
Eosinophile L. Proz.	½	0
Basophile L. „	0	0
Neutrophile L. „	58	53
Lymphocyten „	38½	42½
Monocyten „	3	4½

Soweit also Fleckfieberfälle in ihrem Beginn zur Untersuchung kamen — Fall 29, 36, 37 — konnte ich stets eine ausgesprochene neutrophile Leukocytose und entsprechende Lymphopenie beobachten. Diese Gesetzmäßigkeit fand sich aber nur in den allerersten Tagen. Das beweisen die hohen Lymphocytenwerte in relativ frühem Stadium wie in Fall 46: 39 Proz. am 7. T. v. d. E. (ca. 7. Krankheitstag); im Falle 45: 39 Proz. am 8. T. v. d. E. (ca. 6. Krankheitstag); im Falle 47: 35 Proz. am 11. T. v. d. E. (ca. 3. Krankheitstag), 46 Proz. am 9. T. v. d. E. Welches die Gründe für diese hohen Lymphocytenwerte waren, kann nicht sicher angegeben werden. Es handelte sich um 3 kräftige, junge Burschen zwischen 19 und 21 Jahren, die auf der ganzen Höhe der Krankheit bei hohem Fieber und sehr ausgeprägtem Exanthem im Gegensatz zu den meisten anderen Kranken einen ungewöhnlichen Appetit entwickelten und kaum zu sättigen waren. Darum glaube ich auch, daß so hohe Werte zu so früher Zeit zu den Seltenheiten gehören. Nichtsdestoweniger muß hervorgehoben werden, daß solche Fälle vorkommen.

Daß das Blut mit dem Abklingen der Krankheit immer ärmer an Neutrophilen und reicher an Lymphocyten wird, kann nicht bezweifelt werden. Wenn auch das Steigen in einem Falle früher beginnt als im anderen, wenn auch leichtgradige Schwankungen die fortlaufende Kurve unterbrechen — und wie könnte das ausbleiben bei so zahlreichen Möglichkeiten von bekannten und unbekannten Nebenbeeinflussungen! — so ist die Tendenz zum Sinken der Neutrophilen und Steigen der Lymphocyten bei der Betrachtung der fortlaufenden Untersuchungen nicht zu verkennen. Schulfälle, wie Fall 36 oder 37 oder 41, kommen nicht alle Tage zur Beobachtung, und wer die Grenzen der Sicherheit aller hämatologischen Untersuchungen richtig einschätzt, wird nicht erwarten, daß die Lymphocytenzahlen regelmäßig nach einem Schema steigend gefunden werden. Während z. B. im Falle 35 die Lymphocytenzahl vom 3. Tage vor bis zum 3. Tage nach der Entfieberung von 27 auf 56½ Proz., im Falle 41 vom 2. Tage vor bis zum 2. Tage nach der Entfieberung von 27 auf 56 Proz. gestiegen ist, findet sich im Falle 32 in etwa derselben Zeit und zum selben Zeitpunkt nur eine Steigerung von 29 auf 30 Proz. Lymphocyten. Auch kleine Rückgänge sind zu verzeichnen, wie in Fall 47 vom 9. zum 7. Tage vor der Entfieberung. Am Gesamtbilde wird dadurch nichts geändert.

Zur leichteren Uebersicht sind die Ergebnisse einer Anzahl von Lymphocytenzählungen in eine Tabelle eingetragen worden (s. nächste Seite). Um das Bild nicht zu verwirren, sind die Zählungen nicht in Form von Kurven eingezeichnet, sondern jede Zählung ist an ihrer Stelle in der Tabelle mit der Nummer des Falles vermerkt.

Die Tabelle zeigt sowohl die Lymphopenie der allerersten Tage als auch die Ungleichmäßigkeit im Uebergang von der Verminderung zur Vermehrung. Bis zum 4. Tage vor der Entfieberung werden noch subnormale und normale Werte beobachtet. Vom 3. Tage vor der Entfieberung ab fand sich allerdings ausnahmslos relative Lymphocytose. Vom Beginn der 2. Rekonvaleszenzwoche wurden Werte unter 40 Proz. kaum mehr beobachtet.

Die Monocyten und Uebergangsformen bieten wenig Besonderes, insofern sie nie ganz fehlen und kaum je über die Norm vermehrt sind. Innerhalb dieser normalen Grenzen wurde nicht selten beobachtet, daß sie im Verlauf der Krankheit von normal hohen über relativ niedrige wieder zu hohen Werten übergingen. Fall 37 zeigt am 11. Tage v. d. E. 5, am 4. T. v. d. E. 1, am 16. T. n. d. E. 5 Monocyten, Fall 43 am 10. T. v. d. E. 6, am 6. 1, am 4. 2, am Tage der Entfieberung wieder 7 Monocyten. Pappenheim (37) bemerkt, daß Monocytose gelegentlich eine polynukleäre Leukocytose, häufiger eine Lymphocytose begleiten solle; er selbst hält nur die bei Lymphocytose vermehrten Monocyten für echte Arten; die Monocytose bei Neutrophilie scheint ihm stets bedingt durch monocytoide Leukoblasten und neutrophil gekörnte Promyelocyten. Wie dem auch sei, das oben geschilderte Verhalten der Monocyten könnte danach als die gewöhnliche Begleiterscheinung der neutrophilen Leukocytose im Beginn der Krankheit und auch der später einsetzenden Lymphocytose erklärt werden. Im übrigen zeigen die aufgeführten Fälle, daß die Monocyten sich auch anders verhalten können, z. B. während der ganzen Dauer der Krankheit auf etwa gleicher Höhe bleiben, wie im Falle 47, 32, 46; oder die anfängliche Vermehrung bleibt aus, und nur in der Rekonvaleszenz

Tabelle der Prozent

Lymphocyten	Tag vor der Entfieberung														Entfieberung
	14.	13.	12.	11.	10.	9.	8.	7.	6.	5.	4.	3.	2.	1.	E.
60 Proz.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
											45				
55 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
50 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	46	.	.	.
						47				46					
45 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	21	.	23	10
								47		22					36
40 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.	38	.	.	16	.	.
						48	45	46			43				43
35 „	.	.	.	47	.	.	.	.	.	.	.	37	.	.	.
												36			
30 „	.	.	.	.	43	.	.	.	.	.	.	.	.	38	.
							31		45			35	32, 41		
25 „	.	.	.	.	.	.	.	.	43	.	.	.	.	.	.
										33	37, 41				
20 „	.	.	.	.	.	.	41	.	.	.	.	.	.	.	.
		37		37											
15 „	.	.	.	.	36	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
							36								
10 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
			36												
5 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
				36											
0 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Die Zahlen in der Tabelle bedeuten die Nummer des Falles. Das Resultat

kommt es zu relativ hohen Werten, wie im Falle 36; oder man findet schwankendes Verhalten ohne bestimmte Tendenz, wie im Falle 41.

Die eosinophil granulierten Leukocyten werden im Beginn der Krankheit äußerst spärlich, so daß man eine deutliche Verminderung als die Regel bezeichnen kann. Von einem Fehlen zu sprechen, halte ich nach meinen Untersuchungen für unberechtigt. In den Fällen 47, 48 fand ich sie in einem sehr frühen Stadium, in den Fällen 29 und 37 direkt im Beginn, auch in anderen nicht angeführten Untersuchungen, wenn auch ihre Zahl oft nicht einmal $^1/_2$ Proz. erreichte[1]). Vom 5. Tage vor der Entfieberung ab waren sie meist leicht zu finden. Auffälligerweise betrug ihre Zahl im Fall 33 am 10., im Fall 21 sogar am 12. Tage der Rekonvaleszenz noch nicht $^1/_2$ Proz. Wann sie wieder in nennenswerter Prozentzahl im Blute auftreten, wurde als sehr schwankend befunden. In der Rekonvaleszenz, meist erst nach 3 Wochen, tritt eine Vermehrung der Eosinophilen über die Norm ein (6—9—11 Proz.). Ob die im Falle 6 am 35. Tage nach der Entfieberung gefundene Zahl von $^1/_2$ Proz. und die im Falle 57 gefundene Zahl von $2^1/_2$ Proz. Ausnahmen von dieser Regel bedeuten, oder ob in diesen Fällen die Eosinophilie zu dieser Zeit schon wieder im Abklingen war, läßt sich nicht sicher entscheiden, da in diesen Fällen keine Zählungen aus früherer Zeit vorliegen. Da die Eosinophilenwerte in der nachstehenden Tabelle (s. S. 278) zusammengestellt sind, wird auf eine Aufzählung der Fälle im einzelnen verzichtet.

---

1) Sehr oft fand ich die Eosinophilen erst bei der Durchsicht der Randzone und der Leukocytenansammlung in den Ausziehstrichen am Ende des Ausstrichpräparates, deren völlige Vernachlässigung mir, wie oben erwähnt, unzulässig erscheint.

zahlen der Lymphocyten.

Tag nach der Entfieberung																	
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	26	.	.	.	.	23	.	.	.
	41	47						31	28								32, 35
.	.	35	.	.	.	.	.	.	.	22	.	.	.	.	.	14	.
					45			41				31					
.	.	.	.	.	.	.	.	.	17	20	.	.	5	27	.	7	.
						37, 46				35		8			37		
.	.	.	.	.	.	.	.	.	24	.	21	.	.	.	19	.	.
48		31			36		32		33								
38	.	.	.	.	.	.	.	.	.	9	25	32	.	.	.	.	.
										11		3					
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
37				33													
.	.	32	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

jeder Zählung ist an seiner Stelle mit der Nummer des Falles vermerkt.

In der Prozentzahl der basophil granulierten Leukocyten konnten keine Abweichungen vom normalen Verhalten festgestellt werden. Eine ganz geringe Vermehrung (2 Proz.) mag im Krankheitsbeginn vorkommen; sie ist aber selten.

C. Veränderungen der Einzelzelle und blutfremde Zellen.

Bei der Definition des Begriffs der Leukocytose unter A wurde bereits hervorgehoben, daß man darunter die Reaktion versteht, mit der die Leukocyten oder eine Leukocytenart auf einen Reiz antworten. Die im vorangegangenen Kapitel festgestellte Vermehrung der neutrophilen Leukocyten beim Fleckfieber wird als Folgezustand eines solchen angenommenen, nicht näher zu beschreibenden Reizungsprozesses aufgefaßt und dementsprechend als „neutrophile Leukocytose“ bezeichnet[1]). Der Beginn eines solchen Reizungsprozesses ist charakterisiert durch die vermehrte Mobilisierung und Ausfuhr der in den Blutbildungsstätten vorhandenen reifen Zellreserven (erste Phase der Leukocytose). Dieser Zustand drückt sich im Blutbild aus durch die isolierte Vermehrung der reifen Zellen eines Leukocytentypus — in unserem Falle der Neutrophilen —, wodurch zumeist auch die Leukocyten-Gesamtzahl vermehrt wird. In dieser ersten Phase der Leukocytose mißt man also den Grad des einwirkenden Reizes an der Vermehrung der reifen Zellen der betreffenden Leukocytenart. Dauert nun nach Erschöpfung der reifen

---

[1]) Die Verhältnisse bei der neutrophilen Leukocytose werden im Anschluß an Pappenheim (37), aber nur so weit besprochen, als sie im engsten Sinne für das Fleckfieber in Betracht kommen.

Tabelle der Prozentzahlen der eosinophilen Leukocyten.

	Fall No.	48	47	46	45	43	41	38	37	36	35	29	31	32	33	20	23	16	21	24	26	28	22	8	5	27	7
Tag vor der Entfieberung	13.	.	.	.	.	.	.	.	½	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	12.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	11.	.	1½	.	.	.	.	.	0	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	10.	.	.	.	.	0	.	.	.	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	9.	½	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	8.	.	.	.	0	.	0	.	.	0	.	.	½	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	7.	.	0	0	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	6.	.	.	.	0	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	5.	.	.	1	.	.	.	½	.	.	.	.	.	.	½	0	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.
	4.	.	.	.	0	0	1	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	3.	.	.	3½	.	.	.	.	1½	½	0	.	.	.	.	.	.	.	0	.	.	.	.	.	.	.	.
	2.	.	.	.	.	.	4	.	.	.	.	.	.	½	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	1.	.	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Entfieberung		.	.	.	.	2½	.	.	.	3½	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Tag nach der Entfieberung	1.	0	.	.	.	.	.	1	½	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	2.	.	.	.	.	.	4	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	3.	.	½	.	.	.	.	.	.	.	½	.	1	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	4.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	5.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	6.	.	.	.	1	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	7.	.	.	½	.	.	.	.	½	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	8.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	½	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	9.	.	.	.	.	.	½	.	.	.	.	4	½	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	10.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	.	.	.	.	3	3	½	.	.	.	.	.
	11.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	1½	.	.	.	.	.	.	1½	.	.	.	.
	12.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	.	.	.	.	.	.	.	.
	13.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	½	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.
	14.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	½	.	.
	15.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.
	16.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	17.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2
	18.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	3	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

	Fall No.	4	6	56	54	55	57
Tag nach der Entfieberung	25.	.	.	9	.	.	.
	26.	7½	.	.	.	.	.
	31.	.	.	.	11	.	.
	35.	.	½	.	.	.	.
	41.	.	.	.	.	6	.
	43.	.	.	.	.	.	2½

Zellreserven der Reiz weiter an, so erfolgt ein vorzeitiger Uebertritt der im Gewebe noch nicht ausgereiften Zellen, der Jugendformen der betreffenden Zellart, ins Blut (zweite Phase der Leukocytose). Das Auftreten von Jugendformen wird nach dem Vorgang von Arneth (2) als „Verschiebung des leukocytären Blutbildes nach links" bezeichnet. Je stärker und anhaltender der Reiz ist, umso mehr Jugendformen treten ins Blut über. An der Höhe des Verhältnisses der Jugendformen zu den reifen, oder am Anteil der Jugendformen an der Gesamtzahl, mit anderen Worten: am Grad der Arnethschen Verschiebung kann man also in der zweiten Phase der Leukocytose die Stärke des einwirkenden Reizes ermessen. Das bloße Auftreten von Jugendformen im Rahmen einer Leukocytose zeigt also an, daß bereits die 2. Phase eines leukocytotischen Reizungsprozesses besteht. Das Ueberwiegen der Jugendformen spricht für beginnende Ueberanstrengung des blutbildenden Gewebes. „Ohne Feststellung der Verschiebung und ihres besonderen Typus sind zahlengemäß die Leukocytosen oft nicht unterscheidbar, aber klinisch von absolut verschiedener Bedeutung!“ [Schilling][1]).

Die Jugendformen der Neutrophilen, die man im Fleckfieberblut auftreten sieht, sind Metamyelocyten (neutrophiler Habitus, meist etwas größer als die reifen Neutrophilen, schwächer granuliert, wurst- bis bohnenförmiger Kern) und die noch jüngeren Myelocyten (Kern rund oder oval, sonst wie Metamyelocyten). Besonderer Erwähnung bedarf es, daß es keineswegs immer mit Sicherheit möglich ist, zu entscheiden, ob ein Neutrophilenkern segmentiert oder unsegmentiert ist. „Polynuklearität“ eines Neutrophilen gibt es nach sorgfältigen Studien verschiedener Autoren (6) nicht; es sollen immer Verbindungsfäden vorhanden sein, die, wenn sie zu fein sind, dem Auge des Beobachters entgehen können, oder die bei der Präparation zerreißen können. Wenn Kernsegmente, die in verschiedenen Ebenen liegen, bei der Präparation in eine Ebene zusammengedrückt werden, können sie sich leicht so verdecken, daß das Bild eines unsegmentierten Kerns entsteht. Besonders gut kann man sich von dieser Täuschung bei der Durchsicht von Vitalfärbungen überzeugen.

Um das jeweilige Verhältnis von Jugend- zu Reifeformen festzustellen, müssen die Prozentzahlen beider, wie sie in der Leukocytenformel gefunden sind, gegeneinander gehalten werden, oder es muß, wie es hier geschehen ist, berechnet werden, wie viel neutrophile Jugendformen auf je 100 Gesamtneutrophile (Jugendformen + Reifeformen) kommen.

In der nachstehenden Tabelle finden sich in Fettdruck die Zahlen, die angeben, wieviel Prozent aller Neutrophilen Jugendformen waren; beigedruckt sind (in Schrägdruck) die Gesamtneutrophilenzahlen der allgemeinen Leukocytenformel, sowie die Prozentzahlen der Eosinophilen. Man erkennt aus der Tabelle, wie übereinstimmend im Beginn eine starke Verschiebung des Blutbildes nach links statthat. Werte von 50—80 Proz. bilden in der 1. Krankheitswoche die Regel. Und ebenso werden ziemlich übereinstimmend nach der Entfieberung Werte von 20 Proz. nur selten überschritten, meist nicht erreicht. Erst in der 5. Woche nach der Entfieberung waren in einem Falle die Jugendformen wieder völlig verschwunden. In der zwischen der 1. Krankheitswoche und der Rekonvaleszenz liegenden Fieberzeit ist das Verhalten regellos. Die einen Fälle zeigen ein rasches (Fall 47, 43, 36), andere ein langsameres Absinken (Fall 45, 48, 37) von der Höhe der anfänglichen Verschiebung. Fall 29 zeigt am 7. Tage vor der Entfieberung noch so hohe Werte der Verschiebung, weil ja der 7. Tag in diesem Falle den Krankheitsbeginn bedeutet. Die Verschiebung ging in diesem Falle auffallend langsam zurück. Vergleicht man die Verschiebung, also die Prozentzahl der Jugendformen, mit der Prozentzahl der Gesamtneutrophilen in den einzelnen Stadien, so ist ein Parallelismus nicht festzustellen: das Absinken der ersteren erfolgt, wie nicht anders zu erwarten, wesentlich rascher. So steht im Falle 41 einem Sinken der Neutrophilen von 79 auf 68 Proz. ein Sinken der Verschiebung von 62 auf 32 Proz. gegenüber. Im Falle 36 sinkt die Verschiebung von 79 auf 6 Proz., die Prozentzahl der Neutrophilen in der gleichen Zeit von

---

[1]) Trotz der großen Bedeutung der Arnethschen Verschiebung habe ich nähere Angaben darüber in der Literatur über Fleckfieber nicht finden können.

Tabelle der Arneth

Fall No.		48	47	46	45	43	41	38	37	36	35	29	31
Tag vor der Entfieberung	13.	.	.	.	.	.	.	.	60 (79) ½				
	12.	.	.	.	.	.	.	.	.	64 (91) 0			
	11.	.	43 (58) 1½	.	.	.	.	.	72 (79) 0	80 (98) 0			
	10.	.	.	.	.	52 (64) 0	.	.	.	79 (84) 0			
	9.	53 (58) ½	30 (46) 1	.	.	.	.	.	.	.			
	8.	.	.	.	70 (57) 0	.	62 (79) 0	.	.	69 (85) 0	.	.	50 (58)
	7.	.	13 (53) 0	60 (56) 0	.	.	.	.	.	.	.	64 (84) 1	
	6.	.	.	.	61 (64) 0	35 (74) 0							
	5.	.	.	51 (46) 1	.	.	.	41 (61) ½	.	.	.	.	.
	4.	.	.	.	26 (40) 0	15 (61) 0	33 (73) 1	.	50 (76) 1				
	3.	.	.	26 (39) 3½	.	.	.	.	34 (60) 1½	29 (64) ½	41 (67) 0	.	.
	2.	.	.	.	.	.	32 (68) 4	.	.	.	.	.	.
	1.	.	.	.	.	.	.	38 (61) 2	.	.	.	.	.
Tag d. Entfieberung		.	.	.	.	13 (51) 2½	.	.	.	6 (50) 3½			
Tag nach der Entfieberung	1.	24 (53) 0	.	.	.	.	.	23 (51) 1	26 (64) ½				
	2.	.	.	.	.	.	16 (38) 4	.	.	.	.	54 (65) 1	
	3.	.	12 (38) ½	.	.	.	.	.	.	.	12 (40) ½	.	8 (50) 1
	5.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	36 (58) 1	.
	6.	.	.	.	28 (43) 1	.	.	.	.	12 (47) 2			
	7.	.	.	18 (47) ½	.	.	.	.	24 (49) ½				
	8.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	9.	.	.	.	.	.	15 (44) ½	.	.	.	.	40 (33) 4	4 (41)
	10.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	11.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	13 (46) 1	.	.
	12.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	13.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	7 (42)
	14.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	15.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	16.	.	.	.	.	.	.	.	16 (46) 2	.			
	17.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	18.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	18 (56) 3	.	.

chen Verschiebung.

32	33	20	23	16	21	24	26	28	22	8	5	27	7
·	? (75) 1/2	36 (44) 0	·	·	·	·	·	·	24 (53) 1				
·	·	·	·	·	42 (50) 0								
29 (57) 1/2	·	·	·	25 (56) 1									
·	·	·	15 (46) 1										
20 (65) 1													
·	6 (65) 0												
11 (49) 1/2													
·	9 (56) 0	·	·	·	·	4 (47) 3	3 (30) 3	12 (34) 1/2					
·	·	11 (44) 1 1/2	·	·	·	·	·	·	5 (37) 1 1/2				
·	·	·	·	·	18 (48) 0								
15 (56) 1/2	·	·	·	·	·	·	·	·	·	8 (47) 1			
·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	7 (42) 1/2		
·	·	·	4 (35) 2	·	·	·	·	·	·	·	·	15 (46) 1	
·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	15 (40) 2
14 (37) 2													

Fortsetzung der Tabelle der **Arnethschen** Verschiebung.

	Fall No.	4	6	56	54	55	57
Tag nach der Entfieberung	25.	.	.	**1/2** (*38*) 9			
	26.	**9** (*43*) 7 1/2					
	31.	.	.	.	**0** (*44*) 11		
	35.	.	**8** (*37*) 1/2				
	41.	.	.	.	.	**15** (*57*) 6	
	43.	.	.	.	.	.	**3** (*59*) 2 1/2

Fettdruck: **Prozente** der **Verschiebung.**

Schrägdruck: Prozente der Neutrophilen in der Leukocytenformel.

Gewöhnlicher Druck: Prozente der Eosinophilen in der Leukocytenformel.

84 auf 50. Aehnlich verhalten sich die Fälle 45, 47 und 48. Im Falle 43 ist bei fast gleichgebliebener Neutrophilenzahl die Verschiebung von 52 auf 15 Proz. zurückgegangen.

Auf dem Gebiete der Veränderungen der Einzelzelle und des Auftretens von blutfremden Zellen ist nach Pappenheim (37) noch zu achten auf b) atypische Unreifeformen, c) Zellteilungsformen, d) pathologische Zellformen und e) Degenerationsformen. Die dahin gehörigen Zellen kommen im Blute des Fleckfieberkranken kaum vor, allenfalls wird bei dem starken im Anfang der Krankheit bestehenden leukocytotischen Reizungsprozeß da oder dort ein Vertreter dieser Zellformen ins Blut eingeschwemmt. Eine Ausnahme machen die zu Gruppe d) gehörigen Reizungs- und Plasmazellen, die durch ein abnorm dunkelblau gefärbtes Protoplasma, meist exzentrisch liegenden, ovalen Kern und oft erhebliche Größe gekennzeichnet sind; sie sind mit den Türkschen Reizformen identisch. Diese Zellen sieht man in größerer oder geringerer Zahl oft in den aus der Fieberperiode stammenden Blutpräparaten, zuweilen noch in der Rekonvaleszenz. Auch Klein-Gumprechtsche Kernschatten, zu den Degenerationsformen gehörend, werden mitunter beobachtet.

Abgrenzung des Blutbildes beim Fleckfieber gegen das bei anderen Infektionskrankheiten.

Die praktische Bedeutung der Befunde beim Fleckfieber wäre dann besonders augenfällig, wenn man aus ihnen differentialdiagnostische Anhaltspunkte gewinnen könnte. Denn die Schwierigkeit der Abgrenzung des beginnenden Fleckfiebers gegen andere Infektionskrankheiten ist groß; einmal gibt es an diagnostischen Symptomen arme Fleckfieberfälle, die mit ebensolchen Fällen von anderen Infektionskrankheiten verwechselt werden können; aber auch wenn ausgesprochene Symptome vorhanden sind, kann eine sichere Entscheidung schwierig sein, weil eine Reihe von anderen Erkrankungen in ihrem Beginn nicht selten fleckfieberähnlich auftreten. Eine mit Benommenheit und hohem Fieber einsetzende Krankheit macht es, wenn zunächst weitere Symptome fehlen, oft unmöglich zu entscheiden, ob sie sich zu Fleckfieber oder Typhus, Sepsis, Meningitis, Pneumonie oder zu einer anderen Infektionskrankheit entwickeln wird. Aber auch wenn deutliche Symptome bestehen, wenn insbesondere das Exanthem ausgeprägt ist, so ist Typhus oder — wie ich in einem Falle beobachten konnte — Paratyphus A, Masern, eine mit Exanthem einhergehende Meningitis epidemica oder die zufällige Vereinigung von 2 Krankheiten nicht immer mit Sicherheit auszuschließen. Die Differentialdiagnose aus dem Blut gegen alle diese Infektionskrankheiten im einzelnen zu erörtern, ist im Rahmen dieser Abhandlung nicht möglich — und wohl auch entbehrlich. Denn in den meisten Fällen wird, wenn nicht am 1. Tage, so doch sehr bald eine Abgrenzung aus dem klinischen Bilde möglich sein. Eine Ausnahme macht der Typhus abdominalis; gibt es doch Fälle, die selbst nach ihrem Ablauf noch keine sichere Entscheidung zwischen Typhus und Fleckfieber gestatten.

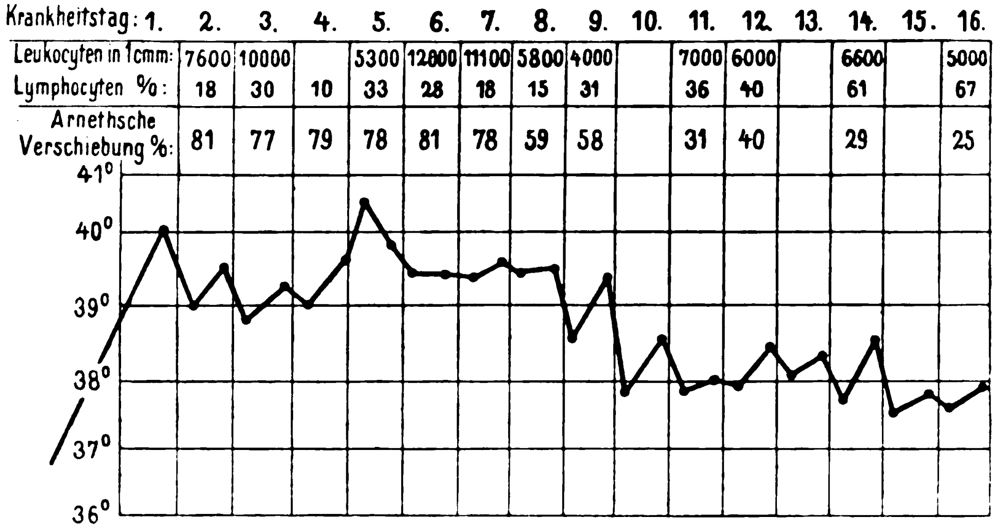
Ueber die Verwertung der Blutbefunde zur Differentialdiagnose zwischen diesen beiden Krankheiten liegen zahlreiche Aeußerungen in der Literatur vor.

Was zunächst die roten Blutkörperchen anlangt, so vertritt nur Bofinger (4) die Ansicht, daß ihr Verhalten differentialdiagnostisch verwertet werden könne: beim Typhus keine Veränderung des Erythrocytenbildes, beim Fleckfieber ausgesprochene Veränderung des erythrocytären Blutbildes, das sich durch Anisocytose, Poikilocytose, Schistocytose, Oligochromasie kennzeichnet. Da ich, wie S. 260 angeführt, die tatsächlichen Angaben Bofingers nicht bestätigt fand, so kann ich natürlich auch seinen Schlußfolgerungen nicht beistimmen. Bei beiden Krankheiten findet man, wie es Grawitz (12) für den Typhus darlegt, Veränderungen der roten Blutkörperchen nur als Ausdruck und Folge einer bei längerer Dauer der Krankheit eintretenden Anämie. Eine Möglichkeit, das Fleckfieber vom Typhus zu unterscheiden, bietet also das Verhalten der Erythrocyten nicht. Ebensowenig kann ich Bofinger beipflichten, wenn er eine im einfachen Blutpräparat erkennbare vermehrte Blutplättchenbildung zur Differentialdiagnose verwerten will. Ich habe schon darauf hingewiesen, daß allgemeinen Angaben über die Blutplättchen, die sich nicht auf genaue Zählungen stützen, wenig Bedeutung zukommt. Sollte ich mich über meine Beobachtungen über die Blutplättchen äußern, so könnte ich nur über den entgegengesetzten Eindruck berichten, daß sich nämlich die Plättchen in vielen Fällen stark gegen die Norm vermindert zeigten.

Das Verhalten der absoluten Leukocytenzahlen wird von den meisten Autoren als diagnostisch bedeutungsvoll bezeichnet. Diese Ansicht folgt ja ohne weiteres aus der Gegenüberstellung der klinischen Lehrmeinung von der Leukopenie beim Typhus und der hohen Zahlen beim Fleckfieber. Matthes (30), Achelis (1), Schittenhelm (46), Bofinger (4) betonen dementsprechend, daß Leukopenie für Typhus und gegen Fleckfieber, normale und vermehrte Werte dagegen für Fleckfieber und gegen Typhus sprächen.

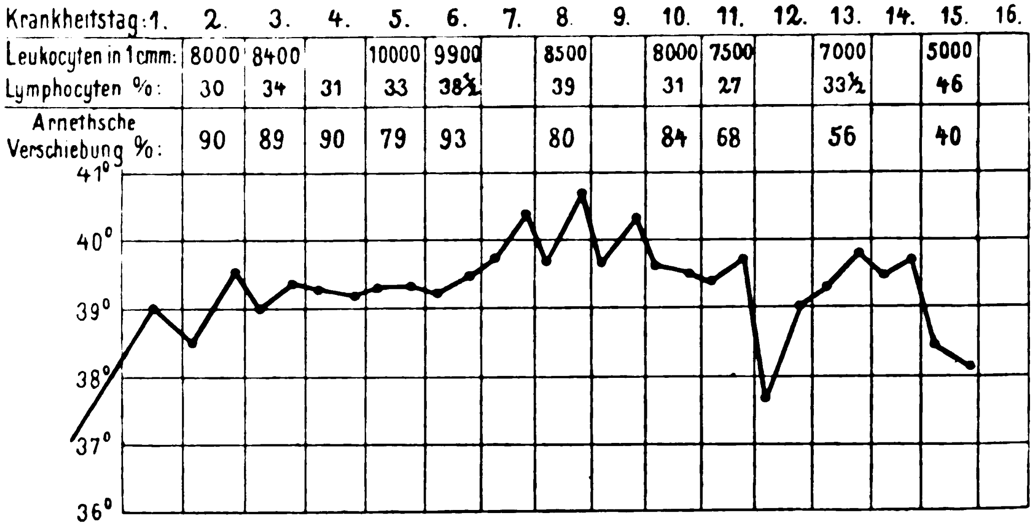
Eine Einschränkung dieser Angaben dürfte jedoch nötig sein. Wenn man nämlich die Typhusliteratur genauer durchsieht, so findet man, daß die Leukopenie im Beginn des Typhus keineswegs allgemein anerkannt ist. Kast und Gütig (21) nehmen zwar an, daß im Beginn des Typhus schon eine Hypoleukocytose bestehe. Petroff (38) dagegen fand in der 1. Woche geringe Hyperleukocytose, in der 2. Woche noch bei 10 Fällen vermehrte, bei 8 normale, bei 12 verminderte Leukocytenzahlen. Klein (23) stellt fest: „Der Bauchtyphus verläuft anfänglich ohne, bzw. mit geringer neutrophiler Leukocytose. Im Verlauf der Krankheit aber wird die Zahl der Leukocyten immer geringer ...“ Nach Jochmann (20) besteht im Beginn des Typhus eine Hyperleukocytose. Naegeli (34) berichtet, daß die von ihm für den Beginn „aus den Verhältnissen des Rezidivs angenommene leichte Leukocytose inzwischen durch die Sahlische Klinik und Gennari (10) gefunden worden“ sei.

Typhusfall 7, E. P., 14 Jahre.



Kurve 1.

Typhusfall 8, L. P., 15 Jahre.



Kurve 2.

Ich selbst habe bei einer Reihe von Typhuskranken Zählungen vorgenommen, von denen ich 2 Fälle ausführlich anführen möchte, weil sie in der Quarantäne erkrankten, und mir so die seltene Möglichkeit boten, vom Fieberbeginn ab Untersuchungen auszuführen. In den obenstehenden beiden Fieberkurven über die ersten 2 Wochen sind eingetragen die absoluten Gesamtzahlen, die Lymphocytenprozente und die Prozente der Verschiebung.

Auf Grund dieser Befunde und ihrer Uebereinstimmung mit den genannten Angaben in der Literatur möchte ich den Autoren beistimmen, die aus der Vermehrung der Leukocyten im Beginn der Erkrankung keine differentialdiagnostischen Schlüsse ziehen wollen. So ist nach **Boral** (5)[1]), **Grober** (13), **Rostoski** (44) Leukocytenvermehrung nicht „gegen Typhus, also für Fleckfieber“ beweisend. Dagegen wird man an der auch von diesen Autoren vertretenen Auffassung festhalten dürfen, daß ausgesprochene Leukopenie gegen Fleckfieber und für Typhus spricht — im Gegensatz zu **Rabinowitsch** (40) und **Lindner** (26).

Die Frage, ob die prozentuale Zusammensetzung der Leukocyten differentialdiagnostisch für die Abgrenzung des Fleckfiebers vom Typhus verwertbar ist, kann noch nicht als ganz entschieden angesehen werden. Für den Typhus haben **Klein** (23), **Türk** (50), **Naegeli** (34, 35) — kurz zusammengefaßt — festgestellt: Im Beginn neutrophile Leukocytose und Lymphopenie, allmählich Absinken der Neutrophilen und entsprechendes Ansteigen der Lymphocyten, so daß es zur Kreuzung der Lymphocyten- und Leukocytenkurve kommt. Die Eosinophilen fehlen anfangs, finden sich noch vor der endgültigen Entfieberung wieder, um allmählich zu steigen, bis in der Rekonvaleszenz eine kompensatorische Eosinophilie besteht. Diese Angaben sind von vielen Autoren bestätigt worden [**Jochmann** (20), **Kast** und **Gütig** (21), **Klemperer**, **Oettinger** und **Rosenthal** (24) u. a.]

Ob der Verlauf in allen Typhusfällen so ist, wie ihn **Türk** (50) und **Naegeli** (34) schildern, ist wohl noch nicht hinreichend sicher. Die beiden in der obigen Kurve geschilderten Fälle zeigen Abweichungen von diesem Bilde. Im 1. Falle (7) zeigte die Prozentzahl der Lymphocyten vom Beginn der Krankheit ab erhebliche Schwankungen, der andere (8) wies vom ersten Tage ab dauernd ausgesprochene Lymphocytose auf. **Grawitz** (12) erwähnt, ihm scheine beim Typhus „schon in der ersten Woche das Prävalieren der einkernigen Formen die Regel zu sein“. Danach dürfte es also gar nicht selten sein, daß, wie in meinem Fall 8, beim Typhus schon vom Beginn an eine geringe relative Lymphocytose besteht, die dann später immer stärker wird. Da mir aber andere Untersucher versichert haben, und ich mich selbst davon überzeugt habe, daß oft schon bei Gesunden die Lymphocytenprozente höher gefunden werden, als sie in den Lehrbüchern „als die Norm“ verzeichnet stehen, möchte ich dieser relativen Lymphocytose im Beginn des Typhus einen nicht zu großen Wert beilegen und sie vorläufig nicht differentialdiagnostisch gegen Fleckfieber verwerten, bei dem ich ja in den ersten Tagen relative Lymphopenie gefunden habe.

Im allgemeinen liegen jedenfalls die Verhältnisse der Leukocytenprozentzahlen beim Typhus ganz ähnlich denen beim Fleckfieber, wie die Angaben in der Literatur und meine Untersuchungen übereinstimmend zeigen. Auch beim Fleckfieber anfangs mehr oder weniger starke Neutrophilie, später immer zunehmende Lymphocytose, die ebenfalls zu einer Kreuzung der beiden Kurven führt, so daß auch an der „charakteristischen **Typhus**kreuzung der Kurven“ [**Naegeli** (34)] **dem Fleckfieber gegenüber** nicht mehr festgehalten werden kann. Was speziell die **Zahl der Eosinophilen** anlangt, deren starke Vermehrung **Klemperer, Oettinger** und **Rosenthal** (24) als spezifisch für die **Typhus**rekonvaleszenz bezeichnen, so wird man diese Behauptung auf Grund der Befunde beim Fleckfieber nicht in vollem Umfange aufrecht erhalten können. Geringfügige Eosinophilie wird ja, worauf u. a. **Matthes** (30) und **Schilling** (45) aufmerksam machen, bei der Rekonvaleszenz vieler Infektionskrankheiten gefunden. Aber auch ungewöhnlich hohe Werte, wie sie **Klemperer, Oettinger** und **Rosenthal** (24) in der Typhusrekonvaleszenz beobachtet und als spezifisch angesehen haben, kommen in der Fleckfieberrekonvaleszenz vor [Fall 3 von **Matthes** (30) 9 Proz., Fall 56 und 54 aus meinen Untersuchungen mit 9 und 11 Proz. Eosinophilen].

---

[1]) **Boral** berichtet von 2 Typhusfällen, bei denen er in den ersten Tagen 12000 und 9000 Leukocyten fand.

Da über die **Arneth**sche Verschiebung zahlenmäßige Angaben in der Literatur über Fleckfieber, wie erwähnt wurde, fehlen, aber auch beim Typhus vermißt werden[1]), so kann ich meinem Urteil nur die von mir gefundenen Zahlen zugrunde legen. Sie lassen keine Unterschiede zwischen Typhus und Fleckfieber erkennen. Auch beim Typhus ist von Anfang an ausgesprochene Verschiebung des Blutbildes nach links festzustellen, die allmählich abnimmt (vgl. hierzu die beiden Kurven S. 284).

Schilling (45) macht darauf aufmerksam, daß bei der neutrophilen Leukocytose die Verschiebung der Neutrophilen sich einteilen lasse in eine a) **regenerative** und b) **degenerative** und sagt: „Die Unterscheidung beider Verschiebungen ist noch nicht überall untersucht, dürfte aber theoretisch und diagnostisch wichtig sein.“ Die degenerative Verschiebung sei charakterisiert durch „das Auftreten allein degenerativer **Stabkerniger** oft in hohem Prozentsatz **ohne Jugendformen**“. Unter Stabkernigen versteht er „anscheinend ohne Segmentierung gereifte Metamyelocyten“. Von den anderen Metamyelocyten unterscheiden sie sich durch „die schmale, bandförmige, oft bizarr gekrümmte und stets hyperchromatische (strukturlos-dunkle) Kernform. Die Körnung ist entweder überstark färbbar oder sehr spärlich und teilweise gelöst.“ Als Beispiel für eine degenerative Verschiebung führt **Schilling** das Blutbild beim **Typhus** an.

Ich habe den Versuch gemacht, unter diesem Gesichtspunkte Typhus- und Fleckfieberblut zu betrachten, um auf diesem Wege vielleicht zu einem differentialdiagnostischen Anhaltspunkte zu gelangen. Ich bin jedoch zu der Ueberzeugung gelangt, daß

1) eine degenerative Verschiebung der Neutrophilen beim Typhus keineswegs **regelmäßig** nachzuweisen ist,

2) bei den üblichen einfachen, die feineren Strukturen sicher beeinflussenden Fixierungs- und Färbemethoden der Blutpräparate eine zuverlässige Abgrenzung der Stabkernigen gegen Metamyelocyten allzuoft überhaupt nicht möglich ist.

Zusammenfassend ergibt sich also für die **Differentialdiagnose zwischen Fleckfieber und Typhus** folgendes:

---

[1]) S. **Schilling** im nächsten Absatz.

A. Absolute Leukocytenzahlen.

1) **Ausgesprochene Hyperleukocytose** von etwa 12000 aufwärts spricht in allen Stadien der Krankheit **gegen** Typhus;
2) **ausgesprochene Leukopenie** von etwa 4500 abwärts spricht in allen Stadien der Krankheit **für** Typhus und **gegen** Fleckfieber;
3) **Normalzahlen, hohe Normalzahlen und geringste Hyperleukocytose** bis etwa 12000 sprechen
   a) in etwa 1 Woche alten Fällen **nicht gegen Typhus**; sie dürften sogar im **Beginn** des Typhus die Regel sein und lassen daher **nicht zwischen Fleckfieber und Typhus entscheiden,**
   b) vom Ende der 2. Woche ab **gegen Typhus,** weil zu dieser Zeit in der überwiegenden Zahl aller Fälle von Typhus Leukopenie besteht.

B. Prozentzahlen.

Sichere Unterschiede in den relativen Zahlen und in der **Arneth**schen Verschiebung **bestehen nicht.** Die Verhältnisse ähneln einander vielmehr sehr: bei beiden Krankheiten die sich steigernde relative Lymphocytose, die zunehmende Verminderung der Neutrophilen, die Kreuzung der Lymphocyten- und Neutrophilenkurve, die anfangs hohe, mehr oder weniger rasch abnehmende **Arneth**sche Verschiebung, die Verminderung der Eosinophilen während des Fiebers, ihre Vermehrung in der Rekonvaleszenz.

Der Wunsch, für Fleckfieber spezifische und darum differentialdiagnostisch verwertbare Merkmale aus der Betrachtung des Blutbildes zu gewinnen, hat zahlreiche Autoren veranlaßt, auf Zellveränderungen ihr besonderes Augenmerk zu richten. Solche **Veränderungen der Zellen und besondere Zellformen** sind denn auch von vielen beobachtet und mitgeteilt worden. v. **Prowazek** (16) erwähnt, daß „der Kern der polynukleären Leukocyten zur Gliederung und Fragmentation neigt, und daß das Chromatin oft an der Peripherie zu Krümeln und Brocken verbäckt". Das Protoplasma der Neutrophilen fand er häufig „rigide von Vakuolen durchsetzt". **Dorendorf** (7) fand die Kerne der Leukocyten „segmentiert und eingebuchtet, sowie im Zelleib basophile Körnelungen". **Rabinowitsch** (40) hält „ganz eigentümliche, sehr intensiv gefärbte weiße Blutkörperchen von lymphocytärem Habitus mit sehr stark basophilem Protoplasma und meist exzentrisch liegendem runden oder ovalen körperlichen Kern, die mit den **Türk**schen Reizformen identisch sind", für charakteristisch. **Pröscher** (39) beobachtete mit seiner Methylenazurkarbonatfärbung „große ovale oder unregelmäßig geformte Zellen, einzeln oder in zusammenhängenden Massen, mit blaßblau gefärbtem Protoplasma und kleinem, tiefblau oder metachromatisch violettblau gefärbtem rundlichen Kern". Diese faßt er als abgestoßene Endothelien auf; er traf sie mit Vorliebe am Rande der Blutausstriche.

Alle diese Veränderungen der Zellen und besonderen Zellformen konnte ich bei meinen Untersuchungen finden. In vielen Fällen habe ich sie gesehen; ihr Auftreten ist jedoch weder regelmäßig bei jedem Fleckfieberfall, noch spezifisch nur beim Fleckfieber zu beobachten, wie ein Vergleich mit dem Blut bei Typhus, Sepsis, Malaria, Scharlach zeigte. Darauf haben auch schon Dorendorf (7) und Otto (36) aufmerksam gemacht.

Die große Anzahl von Blutpräparaten, die ich durchmustert habe, gab mir natürlich auch Gelegenheit und Veranlassung, auf die „Einschlüsse“ in den Leukocyten besonders zu achten, die namentlich v. Prowazek (16) eingehend studiert und beschrieben hat und die er auf Grund ihres Verhaltens für „Organismen, und zwar für Strongyloplasmen im Sinne von Lipschütz“ hielt und als die Erreger des Fleckfiebers ansprach. An der hohen wissenschaftlichen Bedeutung dieser Befunde, die Rocha-Lima, Töpfer u. a. bestätigt und erweitert haben, ist kein Zweifel. Man wird der Kritik Mayers (29) uneingeschränkt beipflichten müssen: „Es mag allen allein auf flüchtiger Betrachtung einiger Leukocyten bei Giemsa-Färbung gegen v. Prowazeks Angaben erhobenen Einwänden, daß es sich eben doch nur um veränderte Leukocytengranula handele, gegenüber besonders betont werden, daß v. Prowazek erst nach vielen Monaten eingehender Untersuchungen und Versuche sich zu seiner Ansicht bekannte, und daß nur eine Nachprüfung auf ebensolcher ernster und breiter Grundlage als stichhaltig beachtet werden könnte.“ Ich möchte also nochmals ausdrücklich betonen, daß mir eine Kritik der v. Prowazekschen Befunde ganz fernliegt. Aber das glaube ich doch aussprechen zu dürfen, daß die praktisch-diagnostische Bedeutung dieser Leukocyteneinschlüsse — wenigstens ohne Anwendung besonders verfeinerter Untersuchungsmethoden — gering ist. Ihre sichere Unterscheidung von ähnlichen Gebilden anderer Art, namentlich manchen Granula, erscheint mir in vielen Fällen unmöglich. Daß im praktischen Betriebe des Laboratoriums oder Lazaretts die Fleckfieberdiagnose auf Grund dieser Befunde gestellt werden könnte, halte ich daher für ausgeschlossen. — Dasselbe gilt für die Einschlüsse, die Pröscher (39) in den oben erwähnten, von ihm beschriebenen besonderen Zellformen gefunden hat und für deren Darstellung er sich eines besonderen Farbstoffes, des Methylenazurkarbonats, bedient. Ich habe für weit mehr als 100 Ausstriche zur Färbung neben der Giemsa-Lösung auch diesen Pröscherschen Farbstoff benutzt. Vielfach habe ich Gebilde gesehen, von denen ich wohl glaube, daß sie mit den von Pröscher beschriebenen identisch waren. Ihre sichere Erkennung aber, und damit ihre praktische Verwertung zur Diagnose erscheint mir bis auf weiteres nicht möglich.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Literatur.

1) **Achelis**, Sitzung d. Sanitätsoffiz. u. Aerzte d. Generalgouvernem. Warschau am 10./11. 1915.

2) **Arneth**, Die neutrophilen Leukocyten bei akuten Infektionskrankheiten. Jena 1904.

3) **Arnheim**, Ueber den Hämoglobingehalt des Blutes in einigen, vorzugsweise exanthematischen Krankheiten der Kinder. (Jahresber. d. Kinderheilk. N. F. Bd. 13. S. 293.)

4) **Bofinger**, Aetiologische, klinische und mikroskopische Beobachtungen bei einer Fleckfieberepidemie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. No. 2.)

5) **Boral**, Zur Diagnose und Prophylaxe des Flecktyphus. (Wien. klin. Wochenschr. 1915. No. 24.)

6) **Brugsch u. Schilling**, Die Kernform der lebenden neutrophilen Leukocyten beim Menschen. (Beobachtungen im Dunkelfelde.) (Fol. haemat. Bd. 6. S. 327.)

7) **Dorendorf**, Beobachtungen bei einer kleinen Fleckfieberepidemie während des Feldzugs in Serbien. (Deutsch. med. Wochenschr. 1916. No. 13.)

8) **Ehrlich**, Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes. T. 1. 1891.

9) **Elfer**, Ueber den Wert der Zählung weißer Blutkörperchen bei der Diagnose interner Krankheiten. Vortrag. (Ref. Fol. haemat. Bd. 1. 1904. S. 105.)

10) **Gennari**, Gaz. degli osped. 1904. No. 1; Rif. med. 1907. No. 11. (Zit. nach **Naegeli**.)

11) **Grancher**, Numération des globules blancs du sang à l'état normal. (Gaz. médic. de Paris. 1876. p. 321.)

12) **Grawitz**, Klinische Pathologie des Blutes. Leizig 1911.

13) **Grober**, Verhandl. d. außerordentl. Tagung d. deutsch. Kongress. f. inn. Med. in Warschau. 1916.

14) **Halla**, Ueber den Hämoglobingehalt des Blutes und die quantitativen Verhältnisse der roten und weißen Blutkörperchen bei akuten und fieberhaften Krankheiten. (Zeitschr. f. Heilk. 1883.)

15) **Hayem**, Du sang etc. Paris 1889. p. 189.

16) **Hegler u. v. Prowazek**, Untersuchungen über Fleckfieber. Vorläuf. Bericht. (Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 44.)

17) **Hasselbach u. Heyerdahl**, Ueber einige physische Gründe der Variationen in der Menge der Blutkörperchen. (Ref. Fol. haemat. Bd. 5. 1908. S. 433.)

18) **Holler**, Verhandl. d. Warschauer Kongress. 1916, s. oben.

19) **Japha**, Die Leukocyten beim gesunden und kranken Säugling. (Jahrb. f. Kinderheilk. N. F. Bd. 52. S. 254 ff.)

20) **Jochmann**, Lehrbuch der Infektionskrankheiten. 1914.

21) **Kast u. Gütig**, Ueber Hypoleukocytose beim Abdominaltyphus und anderen Erkrankungen. (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 80. 1904.)

22) **Keuthe**, Ueber die funktionelle Bedeutung der Leukocyten im zirkulierenden Blute bei verschiedener Ernährung. (Deutsch. med. Wochenschr. 1907. No. 15.)

23) **Klein**, Die diagnostische Verwertung der Leukocytose. (Volkmanns Vortr. N. F. No. 87.) Leipzig 1893.

24) **Klemperer, Oettinger u. Rosenthal**, Zur Diagnostik und Therapie des Typhus im Felde. (Die Therap. d. Gegenw. 1915. S. 161.)

25) **Kotschetkoff**, Morphologische Veränderungen des Blutes beim Scharlach. (Wratsch. 1891. No. 41; Ref. Petersb. med. Wochenschr. 1892. No. 1.)

26) **Lindner**, K. u. k. Gesellsch. d. Aerzte zu Wien. Sitz. v. 14. Mai 1915. Diskussion.

27) **Lipschütz**, Zur Kenntnis der Klinik des Flecktyphus nach Beobachtungen an der Przemysler Epidemie im Frühjahr 1915. (Wien. klin. Wochenschr. 1915. No. 32.)

28) **Malassez**, Soc. de Orol. Séanc. du 27. 5. 1876.

29) **Mayer**, Die Ergebnisse der experimentellen Flecktyphusforschung. (Die Naturwissensch. 1916. H. 37.)
30) **Matthes**, Ueber die Zahl und die Formen der weißen Blutkörperchen beim Fleckfieber. (München. med. Wochenschr. 1915. No. 40).
31) **Mohr u. Staehelin**, Handb. d. inn. Med. Bd. 4. 1912. (**Morawitz.**)
32) **Munk**, Verhandl. Warschauer Kongr. 1916, s. oben.
33) —, Klinische Studien beim Fleckfieber. (Zeitschr. f. klin Med. Bd. 82. H. 5. u. 6.)
34) **Naegeli**, Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. Leipzig 1912.
35) —, Die Leukocyten beim Typhus abdominalis. (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 67.)
36) **Otto**, Beobachtungen bei einer Fleckfieberepidemie. (Deutsch. med. Wochenschr. 1915. No. 45 u. 46.)
37) **Pappenheim**, Grundriß der hämatologischen Diagnostik und praktischen Blutuntersuchung. Leipzig 1911.
38) **Petroff**, Annal. d. Petersburg. Militärakad. 1904. No. 2; Russki Wratsch. 1904. No. 23. (Zit. nach **Grawitz.**)
39) **Pröscher**, Zur Aetiologie des Fleckfiebers. (Berlin. klin. Wochenschr. 1915. No. 31.)
40) **Rabinowitsch**, Hämatologische Diagnose des Flecktyphus. (Deutch. med. Wochenschr. 1913. No. 45.)
41) **Reinecke**, Ueber den Gehalt des Blutes an Körperchen. (Virch. Arch. Bd. 118. 1883.)
42) **Rieder**, Beiträge zur Kenntnis der Leukocytose und verwandter Zustände des Blutes. Leipzig 1892.
43) **Rosenthal u. Grüneberg**, Nicht veröffentlicht. (Zit. in **Keuthe**, s. diesen.)
44) **Rostoski**, Verhandl. d. Warschauer Kongr. 1916, s. oben.
45) **Schilling**, Das Blutbild und seine klinische Verwertung. Jena 1912.
46) **Schittenhelm**, Verhandl. d. Warschauer Kongr. 1916, s. oben.
47) **Strauß u. Rohnstein**, Die Blutzusammensetzung bei den verschiedenen Anämien. 1901.
48) **Strümpell**, Spezielle Pathologie und Therapie der inneren Krankheiten. Leipzig 1907.
49) **Tumas**, Ueber die Schwankungen der Blutkörperzahl und des Hb-Gehalts des Blutes im Verlaufe einiger Infektionskrankheiten. (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 35.)
50) **Türk**, Klinische Untersuchungen über die Verhältnisse des Blutes bei akuten Infektionskrankheiten. Wien u. Leipzig 1898.
51) **Zeller**, Verhandl. d. Warschauer Kongr. 1916, s. oben,
52) **Zollikofer**, Ueber das Verhalten der Leukocyten des Blutes bei lokalen Hautreizen. (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 69. S. 225.)

(G. C.)

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zum Immunisierungsprozess mit Bezug auf die Zustandsphase und Menge des Antigens.

[Aus dem k. k. Sero-therapeutischen Institute in Wien (Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.)]

Von Prof. **M. v. Eisler.**

Die zahlreichen Immunisierungsmethoden verfolgen sowohl zur Erzeugung einer aktiven Immunität (Schutzimpfung), als auch zur Gewinnung hochwertiger Immunsera für diagnostische oder therapeutische Verwendung, abgesehen von allen anderen Verschiedenheiten, das gemeinsame Prinzip, wiederholte Injektionen mehr oder weniger großer Antigenmengen vorzunehmen. Zu dieser Art des Vorgehens ist man schon deshalb gezwungen, weil viele Antigene mehr oder weniger giftig sind, ja die Gruppe der Toxine, also besonders Diphtherie- und Tetanusgift, sogar besondere Abschwächungsverfahren oder äußerst vorsichtige Steigerung der minimalen Anfangsdosis bis zur Erzielung einer sogenannten Grundimmunität notwendig machen. Ferner beobachtet man bei dieser Art der Antigeneinverleibung mit zunehmender Zahl der Injektionen bis zu einer bestimmten Grenze ein Steigen des Antikörpergehaltes. Bei dieser gebräuchlichen Art der Immunisierung bleibt es allerdings unentschieden, welchen Einfluß die Wiederholung der Antigenzufuhr und welche Bedeutung die damit verbundene Vermehrung des eingebrachten Antigens an und für sich bezüglich der gesteigerten Antikörperproduktion hat.

Die reichen Erfahrungen der Immunisierungspraxis und der Tierversuche haben in betreff der letzteren Frage — des Zusammenhanges zwischen Antigenmenge und Höhe des Antikörpergehaltes im Blutserum — manchen Aufschluß gebracht. So hat es sich gezeigt, daß zur Erzeugung beträchtlicher Mengen von eiweißfällenden und lytischen Antikörpern bei geeigneter Zufuhr und Wahl eines entsprechenden Antigens schon sehr geringe Mengen genügen. Es sei hier, um ein Beispiel anzuführen, auf die Versuche von Friedberger und Dorner (1) über Erzeugung von Hämolysinen mit ganz kleinen Mengen roter Blutkörperchen, und von Friedberger und Moreschi (2) über aktive Immunisierung von Kaninchen gegen Cholera und Typhus hingewiesen. Die beiden Autoren haben noch mit $^1/_{100}$ Oese einer auf 60° C erhitzten Cholerakultur einen beträchtlichen bakteriziden und Agglutinationstiter erzielt; mit einer 100—500fach größeren Bakterienmenge wurden dieselben Werte erreicht. Aehnliche Beobachtungen lassen sich auch für die präzipitierenden Antikörper anführen; ebenso genügen erfahrungsgemäß zur Sensibilisierung außerordentlich geringe Eiweißmengen. Während also für diese Gruppe von Eiweißkörpern, wenigstens bei der Wahl eines geeigneten Antigens, wovon noch später die Rede sein soll, die Menge dieses nicht so sehr für die Höhe des erreichbaren Serumtiters ausschlaggebend ist, dürfen wir für die Antitoxine eine viel engere Abhängigkeit der Antitoxinproduktion von der Menge des eingeführten Antigens annehmen. Speziell für das Tetanusantitoxin konnte ich (3) den Nachweis erbringen, daß der Antitoxingehalt mit der Menge des injizierten Giftes wächst, und daß überhaupt erst nach der Zufuhr einer beträchtlichen Toxinmenge ein deutlicher Antitoxingehalt des Blutserums nachweisbar wird. Zur Feststellung des Antitoxingehaltes wurde 0,1 ccm Blutserum der vorbehandelten Meerschweinchen mit der für Mäuse 2fachen letalen Dosis in vitro gemischt und nach halbstündiger Bindung Mäusen injiziert. Bei dieser Prüfung war das Serum der mit 0,1 ccm eines durch Formol entgifteten Tetanustoxins vorbehandelten Meerschweinchen wirkungslos. Das Serum der mit 1 ccm, also der 10-fachen Toxinmenge, injizierten Meerschweinchen vermochte bereits die Mäuse am Leben zu erhalten, wenngleich noch einige Tetanuserscheinungen aufwiesen. Bei den mit 5 ccm immunisierten Meerschweinchen war der Prozentsatz der vollkommen gesund bleibenden Mäuse noch ein bedeutend höherer. Aus den angeführten Befunden ergibt sich also mit der Zufuhr einer größeren Toxinmenge ein deutliches Ansteigen des Antitoxingehaltes, wobei schon Steigerungen um das 5-fache einen wesentlichen Einfluß ausüben. Gewiß ein auffallender Unterschied zu den früher erwähnten Versuchen von Friedberger und Moreschi (2) über die Erzeugung von Bakteriolysinen und Agglutininen.

Die folgenden Versuche sollen auch zu der anderen Frage einen Beitrag liefern, welchen Einfluß die Wiederholung der Antigenzufuhr gegenüber einer einmaligen Injektion hat, und zwar wieder für die beiden Gruppen von Antikörpern — Antitoxine einerseits, eiweißfällende Antikörper andererseits. Um den Einfluß der wiederholten Injektion losgelöst von der gleichzeitigen Steigerung der Antigenzufuhr möglichst deutlich in Erscheinung treten zu lassen, war es notwendig, so vorzugehen, daß einmal eine bestimmte und hinreichende Antigenmenge mittels einer einzigen Injektion einverleibt wurde, ein anderes Mal dieselbe Antigenmenge, auf mehrere Injektionsdosen verteilt, in den üblichen Zwischenräumen eingespritzt wurde. Gegenüber dieser Versuchsanordnung machen sich bei den Toxinen insofern Schwierigkeiten geltend, als die Einführung einer genügend großen Toxinmenge bei einem normalen Tiere gewöhnlich nicht durchführbar ist. In dem von Loewenstein und mir (4) untersuchten Formol-Tetanusgift besitzen wir aber ein Antigen, welches obiger Forderung ausgezeichnet entspricht, indem dieses veränderte Tetanustoxin auch in sehr großen Mengen vollkommen unschädlich ist, und sich nach unseren Erfahrungen schon durch einmalige Injektion einer genügend großen Menge reichlich Antitoxin gewinnen läßt. Zur Erzeugung von fällenden Antikörpern habe ich Aufschwemmungen von Typhus- und Cholerabakterien benützt, welche entweder durch $1\frac{1}{2}$-stündiges Erhitzen auf 56° C oder durch Zusatz von Karbol bis zur Konzentration von 0,5 Proz. abgetötet waren.

Antitoxinversuche.

Kaninchen von ca. 2000 g erhielten 5 ccm der durch Formolzusatz entgifteten Tetanusbouillon auf einmal, eine andere Reihe gleich großer

Tiere ebenfalls 5 ccm, aber auf 5 Injektionen zu je 1 ccm verteilt; die Einspritzungen wurden alle 5 Tage vorgenommen. Die Toxinmenge wurde absichtlich nicht zu groß gewählt, damit ein eventueller Einfluß der wiederholten Injektion um so deutlicher sichtbar werde und nicht schon durch eine einzelne Injektion der fraktionierten Dosis eine stärkere Antitoxinproduktion bewirkt wird. Der Antitoxingehalt wurde wieder in der Weise bestimmt, daß je 0,1 ccm und 0,01 ccm des zu untersuchenden Serums $^1/_2$ Stunde mit je 2 letalen Mausdosen stehengelassen und hierauf das Gemisch weißen Mäusen injiziert wurde. Da die Gemische mit 0,01 ccm Kaninchenserum nicht neutralisiert, sondern höchstens leicht abgeschwächt wurden, werden nur die Ergebnisse der Gemische mit 0,1 ccm Serum angeführt. Bei jedem Versuch wurde zur Kontrolle auch die entsprechende Toxinmenge mit Kochsalzlösung statt Serum injiziert.

Versuch.

5 Kaninchen, 1mal mit je 5 ccm Tetanusbouillon injiziert. Von den 5 Mäusen bleibt 1 gesund, 1 bekommt Tetanus und bleibt am Leben, 1 stirbt 3 Tage später an Tetanus als das Kontrolltier, 2 gleichzeitig mit der Kontrolle.

4 Kaninchen, 5mal mit je 1 ccm Tetanusbouillon injiziert. Von den 4 Mäusen bleibt 1 gesund, 1 hat nur leichte tetanische Symptome, 1 stirbt 2 Tage später, 1 gleichzeitig mit der Kontrolle.

Dieser Versuch läßt keinen Vorteil der mehrmaligen Injektion erkennen.

Ebenso, wie die Kaninchen, wurden Meerschweinchen mit der entgifteten Tetanusbouillon vorbehandelt, und zwar 1 Reihe 1mal mit je 1 ccm, 1 andere 5mal mit 0,2 ccm.

Die Auswertung der Meerschweinchensera erfolgt in derselben Weise wie die der Kaninchensera.

Versuch.

8 Meerschweinchen, 1mal 1 ccm.

4 Mäuse sterben ohne Verzögerung, eine 3, eine 5, eine 6 Tage später als die Kontrolle, eine bleibt gesund.

7 Meerschweinchen, 5mal 0,2 ccm.

4 Mäuse sterben ohne Verzögerung, eine 5 Tage später als die Kontrolle, 1 überlebt nach überstandenem Tetanus, 1 bleibt gesund.

In einem anderen Versuche, bei dem eine besser wirksame Tetanusbouillon zur Verwendung kam, wurden Meerschweinchen 1mal mit je 2 ccm und 5mal mit je 0,4 ccm vorbehandelt.

Versuch.

5 Meerschweinchen, 1mal 2 ccm.

3 Mäuse bleiben gesund, 1 stirbt mit 1-tägiger, 1 mit 2-tägiger Verzögerung.

5 Meerschweinchen, 5mal 0,4 ccm.

2 Mäuse bleiben gesund, 1 überlebt nach schwerem Tetanus, 2 sterben mit 1-tägiger Verzögerung.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Auch bei den Meerschweinchen wurde durch mehrmalige Injektion nicht mit Sicherheit ein besseres Resultat erzielt als durch 1malige Einspritzung. Der etwas günstigere Ausfall bei der 1. Serie für die 5mal injizierten Tiere dürfte auf individuelle Schwankungen zurückzuführen sein, da bei der 2. Serie wieder die einmal Injizierten ein etwas besseres Ergebnis geliefert haben.

Versuche über Bildung von Agglutininen.

Die zur Immunisierung der Kaninchen benutzten Bakterienaufschwemmungen wurden durch Abschwemmen von 24-stündigen Agarkulturen mit 0,85-proz. Kochsalzlösung gewonnen. Ein Teil dieser Aufschwemmungen wurde durch $1^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 56° C für Typhusbakterien, durch $1^1/_4$-stündiges Erhitzen für Choleravibrionen sterilisiert; ein anderer Teil derselben Aufschwemmung wurde bis zu einem Gehalt von 0,5 Proz. mit Phenol versetzt und nach entsprechender Einwirkungszeit auf Sterilität geprüft. In jeder Versuchsreihe kamen möglichst gleich schwere Tiere zur Verwendung; die Injektionen erfolgten ausnahmslos intraperitoneal.

In den folgenden Tabellen sind die Mengen angegeben, welche notwendig waren zur kompletten Agglutination von 1 ccm der betreffenden Bakterienaufschwemmung in einem Gesamtvolumen von 2 ccm. In Tabelle I und II sind die Agglutinationstiter der Tiere angegeben, welche 4 ccm Typhusaufschwemmung auf einmal oder 4mal je 1 ccm erhalten haben, und zwar erhitzte oder karbolisierte Bakterien.

Tabelle I.

Injektion von erhitzten Typhusbakterien.

Einmal 4 ccm	Viermal 1 ccm
0,003 ccm	0,0005 ccm
0,003 „	0,001 „
0,003 „	0,001 „
0,003 „	0,002 „
0,003 „	0,002 „
0,005 „	0,003 „
0,005 „	0,003 „
0,005 „	0,01 „
Mittelwert: 0,0037 ccm	Mittelwert: 0,0028 ccm

Tabelle II.

Injektion von karbolisierten Typhusbakterien.

Einmal 4 ccm	Viermal 1 ccm
0,001 ccm	0,0005 ccm
0,001 „	0,0005 „
0,003 „	0,001 „
0,003 „	0,002 „
0,005 „	0,002 „
0,01 „	0,003 „
0,01 „	
0,02 „	
0,02 „	
0,04 „	
Mittelwert: 0,0013 ccm	Mittelwert: 0,0015 ccm

In einem anderen Versuche wurden Kaninchen mit kleineren Mengen karbolisierter Typhusaufschwemmung vorbehandelt; diese Tiere erhielten im ganzen 0,2 ccm Typhusaufschwemmung, und zwar eine Reihe wieder mittels 1 Injektion, die 2. Reihe 4mal je 0,05 ccm.

Tabelle III.

Injektion von karbolisierten Typhusbakterien.

Einmal 0,2 ccm	Viermal 0,05 ccm
0,005 ccm	0,002 ccm
0,01 „	0,002 „
0,01 „	0,003 „
0,02 „	0,005 „
0,02 „	0,01 „
Mittelwert: 0,013 ccm	Mittelwert: 0,0044 ccm

Die Blutsera der mit erhitzten oder karbolisierten Choleravibrionen vorbehandelten Kaninchen ergaben folgende Werte:

Tabelle IV.

Injektion von erhitzten Choleravibrionen.

Einmal 4 ccm	Viermal 1 ccm
0,004 ccm	0,005 ccm
0,004 „	0,01 „
0,04 „	0,01 „
	0,02 „
Mittelwert: 0,016 ccm	Mittelwert: 0,011 ccm

Tabelle V.

Injektion von karbolisierten Choleravibrionen.

Einmal 4 ccm	Viermal 1 ccm
0,02 ccm	0,003 ccm
0,04 „	0,003 „
0,04 „	0,005 „
0,04 „	
Mittelwert: 0,035 ccm	Mittelwert: 0,0037 ccm

Bei einigen der in den Tabellen angeführten Typhus- und Choleraimmunsera wurde auch die Avidität untersucht, um festzustellen, ob sich die durch 1malige oder mehrmalige Injektion hergestellten Immunsera in dieser Richtung unterscheiden. Zu diesem Zwecke wurden je 200 Agglutinationseinheiten der betreffenden Sera mit je 1 ccm Bakterienaufschwemmung versetzt und in allen Röhrchen mittels Kochsalzlösung das gleiche Volumen hergestellt. Nach entsprechender Bindungszeit wurden die Bakterien abzentrifugiert, und die überstehende Flüssigkeit auf ihren Agglutiningehalt ausgewertet. Tabelle VI enthält die Absorptionskoeffizienten der mit karbolisierten Typusbakterien hergestellten Sera, und zwar sowohl der mit 4 ccm als auch der mit 0,2 ccm.

Tabelle VI.

Avidität der mit karbolisierten Typhusbakterien gewonnenen Sera.

Einmal 4 ccm	Viermal 1 ccm	Einmal 0,2 ccm	Viermal 0,05 ccm
Q 0,75	Q 0,5	Q 0,5	Q 0,33
Q 0,75	Q 0,75	Q 0,83	Q 0,33
Q 0,75	Q 0,75	Q 0,5	Q 0,5
	Q 0,55	Q 0,5	Q 0,33
	Q 0,87	Q 0,75	Q 0,5
Mittelwert: 0,75	Mittelwert: 0,68	Mittelwert: 0,61	Mittelwert: 0,49

Die Absorptionskoeffizienten der mit erhitzten Choleravibrionen hergestellten Immunsera sind in Tabelle VII angeführt.

Tabelle VII.

Avidität der mit erhitzten Choleravibrionen gewonnenen Sera.

Einmal 4 ccm	Viermal 1 ccm
Q 0,6	Q 0,75
Q 0,5	Q 0,5
	Q 0.5
Mittelwert: 0,55	Mittelwert: 0,58

Wie aus den Tabellen hervorgeht, war kein wesentlicher Unterschied in der Avidität der durch 1- oder 4malige Injektion gewonnenen Sera festzustellen, weder bei Verwendung karbolisierter, noch bei der Einspritzung erhitzter Bakterien. Auf dieses Verhalten soll noch später zurückgekommen werden.

Sieht man von den besonders bei der Agglutinationsbildung in Betracht kommenden beträchtlichen individuellen Verschiedenheiten der einzelnen Versuchstiere ab und berücksichtigt der besseren Uebersicht wegen die aus einer ganzen Versuchsreihe sich ergebenden Mittelwerte, die am Fuße jeder Tabelle (I—V) angeführt sind, so ergibt sich, daß bei Verwendung erhitzter Bakterien — sowohl Typhus wie Cholera — die Unterschiede zwischen den durch 1malige und 4malige Injektion gewonnenen Seris recht unbedeutende sind. Der Wert der Typhussera nach 1maliger Injektion ist 0,0037 ccm, nach 4maliger 0,0028 ccm, das Verhältnis wie 1 : 1,3. Für die Cholerasera ergab sich nach 1 Injektion als Mittelwert 0,016 ccm, nach 4 Injektionen 0,011 ccm; Verhältnis wie 1 : 1,4. Ganz anders war das Verhalten jedoch bei den mit karbolisierten Bakterien hergestellten Immunseris. Durch 1malige Injektion von Typhusaufschwemmung wurde bloß ein Durchschnitt von 0,0113 ccm erzielt, durch 4malige aber von 0,0015 ccm, so daß das Verhältnis 1 : 7,5 ist. Auch bei der Einverleibung kleinerer Antigenmengen ist der Unterschied zwischen 1- und 4maliger Injektion noch deutlich. Die Durchschnittswerte sind hier 0,013 ccm und 0,0044 ccm, das Verhältnis somit wie 1:3. Ein ganz analoges Resultat ergibt sich für die Choleraimmunsera. Nach 1maliger Injektion enthielt erst 0,035 ccm eine Agglutinationseinheit, nach 4maliger schon 0,0037 ccm, also ein Verhältnis wie 1 : 9,4. Der Gegensatz zwischen den beiden Antigenen ist also recht deutlich. Bei Verwendung der erhitzten Bakterien ist der Einfluß der wiederholten Injektion ein unbedeutender, bei Verwendung karbolisierter Bakterien ein sehr starker.

Ziehen wir nun auch die bezüglich der Antitoxinbildung gemachten Versuche heran, so zeigt sich, daß für die Bildung dieser Antikörper die Wiederholung der Antigenzufuhr ohne merklichen Einfluß ist, da bei den angeführten Versuchen der Antitoxingehalt nach Einverleibung der gleichen Toxinmenge annähernd derselbe war, sei es, daß die betreffende Dosis auf einmal oder auf mehrere Injektionen verteilt beigebracht wurde, ein Verhalten wie es für die Agglutininbildung nach Zufuhr erhitzter Bakterien festgestellt wurde. Diese Analogie muß, da es sich um die Bildung ganz verschiedener Antikörper handelt, und namentlich mit Rücksicht auf die gerade entgegengesetzte Beobachtung bei Verwendung von karbolisierten Bakterien auf die Art des Antigens zurückgeführt werden. Da bisher die Reindarstellung eines Antigens nicht gelungen ist, sind wir über die genauere Zusammensetzung eines derartigen Körpers nicht orientiert; zwei Eigenschaften müssen aber den mannigfachen Antigenen jedenfalls zugesprochen werden, ihre kolloidale Beschaffenheit und ihre Eiweißnatur. Auch die Bildung von Antikörpern ist ein noch ungeklärter Vorgang. Zu seiner Auslösung ist aber unbedingt erforderlich, daß höher molekulare Eiweißkörper, welche sonst nach der normalen Verdauung die Darmwand nicht passieren, in die Blutbahn gelangen — daher im allgemeinen eine Antikörperbildung nur nach parenteraler Zufuhr eintritt — und daß die in die Blutbahn eingeführten, als Antigene wirkenden Eiweißkörper zu den Zellen in Beziehung treten. Gegenüber diesen fremden Stoffen in der Blutbahn verhalten sich die Körperzellen natürlich nicht reaktionslos. Neben den, besonders von Abderhalden in den letzten Jahren eingehend studierten, sogenannten Abwehrfermenten müssen wir auch in den Immunkörpern ein Produkt dieser Reaktion sehen. Je nach der Art des eingeführten Antigens verhalten sich aber die Körperzellen verschieden; insbesondere ist die Molekulargröße für alle Lebens- und Austauschvorgänge, unter die als spezieller Fall auch der Immunisierungsvorgang einzureihen ist, von integrierender Bedeutung. [Vgl. E. Pick (5), Biochemie der Antigene; Kolle-Wassermann, 2. Aufl., Bd. 1.] Daher unterscheidet Pick (5) zwischen monovalenten Antigenen, welche nur nach einer Richtung wirkende Antikörper zu erzeugen vermögen, und den polyvalenten, welche die Entstehung einer größeren Anzahl von Immunkörpern anzuregen vermögen. Zu den ersteren sind die Toxine zu rechnen, denen, zufolge ihrer geringeren Molekulargröße, auch eine noch merkliche Diffusionsgeschwindigkeit zukommt. Vermöge dieser Eigenschaften wird den Toxinen das Eindringen in die Zellen erleichtert werden, und sie werden ohne eingreifendere Veränderungen von den Zellen aufgenommen werden können, eine Bedingung, welche voraussichtlich zur Entfaltung ihrer spezifischen Wirkung nötig ist.

Führen wir also ein gut assimilierbares Antigen, wie es am ausgesprochensten die Toxine darstellen, ein, so ist es ohne weiteres verständlich, daß die Hauptmenge desselben von den in Betracht kommenden Zellen aufgenommen wird, und es daher ohne wesentlichen Einfluß für den Immunisierungseffekt sein muß, ob die betreffende Toxinmenge auf einmal oder auf mehrere Einzeldosen verteilt injiziert wird. Aehnlich dürften sich die erhitzten Bakterienaufschwemmungen verhalten. Bei der Erwärmung der frischen Agarkulturen in Wasser geht bekanntlich ein beträchtlicher Teil des Bakterieneiweißes, und zwar des für die Erzeugung von Agglutininen und Bakteriolysinen erforderlichen, in Lösung, da es ja bereits Neisser und Shiga (6) mittels auf diese Weise hergestellter und hierauf keimfrei filtrierter Extrakte, ihrer sogenannten freien Rezeptoren, gelungen ist, agglutinierende und bakteriologische Sera zu gewinnen. Ferner kann als sicher angenommen werden, daß das Agglutinogen der Bakterien nicht den hochmolekularen Eiweißkörpern zuzurechnen ist, insofern selbst das Koagulin A, von Pick (7) aus alten Typhusbouillonkulturen dargestellt, nicht mehr hitzekoagulabel ist. Die erhitzte Bakterienaufschwemmung mit ihrem beträchtlichen Gehalt an gelöstem, leicht resorbierbarem Antigen kann daher den Toxinen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

nahegestellt werden, und dadurch der Ausfall der angeführten Versuche erklärt werden. Da schon bei der ersten Injektion genügende Mengen des gelösten, niederer molekularen Antigens zu den Antikörper produzierenden Zellen in Beziehung treten können, werden die wiederholten Zufuhren von Bruchteilen der betreffenden Bakterienaufschwemmung keine sehr bedeutende Steigerung der Agglutinationsproduktion hervorrufen.

Ganz andere Verhältnisse liegen bei der Verwendung von karbolisierten Bakterienaufschwemmungen als Antigen vor. Die erhaltenen Bakterienleiber oder deren Zerfallsprodukte von noch bedeutender Größe können zu den Körperzellen nicht direkt in Beziehung treten, sondern die als Antigene wirkenden Substanzen müssen zur Ausübung ihrer Funktion erst aus ihnen frei gemacht werden, beziehungsweise in eine solche Form gebracht werden, daß sie von den Zellen aufgenommen werden können. Bei der ersten Injektion wird dieser Vorgang nur in beschränktem Maße stattfinden, daher nur eine sehr geringe Antigenmenge zur Wirkung gelangen, so daß sich auf diese Weise der niedere Agglutinationstiter nach 1maliger Injektion karbolisierter Bakterienaufschwemmungen erklärt. Bei wiederholten Injektionen verfügt der Organismus aber bereits über Mittel, unter denen neben Fermenten in erster Linie die nach der ersten Injektion gebildeten Immunkörper zu rechnen sind, um aus den großen, nicht direkt zugänglichen Komplexen antigene Stoffe von geringerer Größe und guter Resorbierbarkeit frei zu machen. Der Ausfall der angeführten Versuche widerlegt auch den Einwand, daß die karbolisierten Bakterien ein schlechtes Antigen repräsentieren, in dem Sinne, daß das Agglutinogen der Bakterien durch den Karbolzusatz eventuell geschädigt wäre. Denn durch wiederholte Zufuhr der karbolisierten Bakterien wurden sogar höhere Agglutinationswerte erzielt, als durch die gleiche Anzahl von Einspritzungen mit erhitzten Bakterien, bei Typhusbakterien 0,0015 ccm gegen 0,0028 ccm, bei den Choleravibrionenn 0,0037 ccm gegen 0,011 ccm; notwendig zu einer reichlichen Antikörperproduktion ist eben nur, daß genügend Antigen in assimilierbarer Form vorhanden ist; wird diese Bedingung erfüllt, so bewirkt die 1malige Zufuhr einer entsprechenden Antigenmenge schon einen hohen Serumtiter. Auf Grund dieser Ueberlegung darf auch die oben gemachte Annahme, daß in den karbolisierten Bakterienaufschwemmungen keine genügenden Mengen von resorbierbarem Agglutinogen enthalten sind, Anspruch auf Richtigkeit machen, denn sonst wäre nicht einzusehen, warum die einmalige Injektion der gleichen Menge karbolisierter Bakterien nicht ebenso reichliche Agglutininbildung hervorrufen sollte, wie die von erhitzten Bakterienaufschwemmungen, da ja nach wiederholten Injektionen der gleichen Dosen ein Unterschied zwischen erhitztem und karbolisiertem Antigen eher zugunsten des letzteren besteht.

Durch das $1^1/_2$-stündige Erhitzen der Bakterien in wässeriger Aufschwemmung wird schon an und für sich eine größere Menge Bakterieneiweiß resp. Agglutinogen in Lösung gehen, als beim Aufbewahren bei niederer Temperatur. Außerdem aber dürfte das Karbol die Löslichkeit des Bakterieneiweißes herabsetzen, so daß in diesem Umstande ein weiterer Grund zu sehen ist, warum die karbolisierte Aufschwemmung weniger gelöstes Agglutinogen enthält als die erhitzte. Die Löslichkeitsverhältnisse der lysinogen und agglutinogen wirkenden Substanzen aus

Bakterien sind eben recht mannigfaltige und auch von der Bakterienart abhängig, wie die Anführung einiger Beispiele aus der Literatur zeigen kann. So fanden Friedberger und Moreschi (2) bei ihren früher erwähnten Versuchen über die aktive Immunisierung von Kaninchen gegen Cholera und Typhus, daß durch Verimpfung von bei 60° abgetöteten Cholera- und Typhusbakterien bei Kaninchen hohe bakterizide und Agglutinationswerte zu erzielen sind, durch Behandlung der Cholerabakterien mit Chloroform aber die lysinogenen Gruppen nur unbedeutend geschädigt werden, die agglutinogenen bei den gewählten Versuchsbedingungen unwirksam werden. Dazu ist zu bemerken, daß die beiden Autoren nur eine einzige Injektion von $^1/_{100}$ Oese gemacht haben. Hätten Friedberger und Moreschi (2) die Injektionen mit Chloroformbakterien wiederholt, so hätten sie wahrscheinlich auch eine deutliche Agglutinationsproduktion erreicht; die chloroformierten Choleravibrionen scheinen sich bezüglich ihres Agglutinogens ähnlich zu verhalten wie die karbolisierten. Dafür sprechen auch weitere Versuche von Friedberger und Moreschi (2).

Wenn sie nämlich die aus Chloroform behandelten Cholerabakterien einer 3—11-tägigen Autolyse unterwarfen, beobachteten sie eine Wiederzunahme ihrer Antigene, und zwar nicht nur der schon vor der Autolyse vorhandenen, wenn auch etwas abgeschwächten Lysinogene, sondern auch der Agglutinogene unter denselben Versuchsbedingungen, das ist einmalige Injektion einer kleinen Dosis, unter denen durch die chloroformierten, aber nicht autolysierten Cholerabakterien keine merkliche Agglutininproduktion hervorgerufen werden konnte. Dieser Befund läßt sich mit Beziehung auf meine Versuche mit karbolisierten Bakterien so erklären, daß durch die Autolyse agglutinogenes Bakterieneiweiß in Lösung gegangen ist, so daß sich damit schon durch 1malige Injektion eine deutliche Agglutinationswirkung des Serums erzielen läßt. Bei Typhusbakterien konnten Friedberger und Moreschi (2), unter den von ihnen gewählten Versuchsbedingungen, nicht eine solche Wirkung des Chloroforms beobachten. In diesen Versuchen kamen so geringe Mengen von Chloroform zur Anwendung, daß sich eine Wirkung auf die viel resistenteren Typhusbakterien, die überdies viel bessere Agglutininbildner sind als die Choleravibrionen, noch nicht bemerkbar machen mußte. Uebrigens scheinen bezüglich der Lösungsverhältnisse der lysino- und agglutinogenen Substanzen bei Typhus- und Cholerabakterien auch sonst Verschiedenheiten zu bestehen. So ist es Brieger und Schütze (8) mittels ihres komplizierten Aussalzungsverfahrens durch Ammonsulfat gelungen, aus Typhusbakterien eine Lösung herzustellen, die nach ihren Angaben agglutininerzeugend wirkte, aber keine Bakterizidie hervorrief. Mit demselben Verfahren erhielt Mayer (9) aus Choleravibrionen ein Antigen, das schwach agglutinogen und gut lysinogen war. Eine Verschiedenheit der Agglutinine, Präzipitine und Lysine erzeugenden Substanzen hält auch Pick (5) für wahrscheinlich; erstere Eigenschaft sei globulinartigen Körpern, letztere dem Nukleoalbuminen zuzuschreiben. Eine weitere Stütze für die Bedeutung der Löslichkeitsverhältnisse und der Resorption zur Hervorrufung von Agglutininen bieten auch Versuche von Pick und Schwarz (10), denen es gelang, durch Injektion von Typhusbakterien in Emulsionen von Lecithin oder Organlipoiden bedeutend höhere Agglutinationswerte zu erzielen als durch Kochsalzaufschwemmungen der betreffenden Bakterien, wobei sogar noch

Unterschiede in der Wirksamkeit der Lipoide aus verschiedenen Organen beobachtet wurden. Die angeführten Beispiele, die sich noch vermehren ließen, dürften bereits genügen, um die Abhängigkeit der Wirksamkeit des Antigens von seiner Löslichkeit und Zustandsphase darzutun.

Bezüglich des Einflusses der Antigenmenge auf die Antitoxinproduktion haben die Erfahrungen der Immunisierungspraxis gelehrt, daß im allgemeinen der Antitoxingehalt des Blutserums mit der Menge des eingeführten Toxins und der Dauer der Immunisierung steigt so lange, bis der für das betreffende Tier mögliche Höhepunkt der Antitoxinbildung erreicht ist. Bei längerer Dauer der Immunisierung können sich sekundäre Einflüsse, welche in der Natur des betreffenden Toxins begründet sind, und beispielsweise eine Schädigung der Antitoxinkörper bildenden Zellen herbeiführen, bemerkbar machen; außerdem muß natürlich immer mit der individuellen Eignung der Tiere zur Antikörperbildung gerechnet werden, infolge deren, trotz der gleichen Vorbehandlung, nicht unbeträchtliche Differenzen in der Höhe des Serumtiters beobachtet werden, so daß zur Beurteilung des Erfolges eines Immunisierungsverfahrens immer nur Durchschnittszahlen aus nicht zu kleinen Versuchsreihen in Betracht kommen können.

Unter Berücksichtigung dieser Umstände steht, wie oben auf Grund der Versuche mit Tetanustoxin auseinandergesetzt wurde, die Stärke der Antitoxinproduktion in direkter Abhängigkeit von der Menge des eingeführten Toxins. Für die fällenden Antikörper ist ein solcher direkter Zusammenhang nicht ohne weiteres nachweisbar, wahrscheinlich weil unter günstigen Bedingungen zu einer beträchtlichen Bildung derartiger Immunkörper schon sehr geringe Antigenmengen ausreichen, wenn sie nur einen bestimmten Grenzwert erreichen.

Immerhin scheint eine größere Antigenmenge auch der Bildung von Agglutininen förderlich zu sein. Aus den Tabellen II und III geht nämlich hervor, daß die Sera der mit 4 ccm karbolisierter Typhusaufaufschwemmung vorbehandelten Kaninchen nach 1maliger Injektion einen Mittelwert von 0,0113 ccm, nach 4maliger Injektion einen solchen von 0,0015 ccm hatten; nach der Immunisierung mit bloß 0,2 ccm derselben Aufschwemmung war der Durchschnitt für die 1mal gespritzten Tiere 0,013 ccm, für die 4mal gespritzten 0,0044 ccm. Der Unterschied zwischen den 1mal injizierten Kaninchen ist, da in beiden Fällen wegen der ungünstigen Resorptionsbedingungen nur sehr geringe Antigenmengen zur Wirkung gelangen können, nicht wesentlich; bei den 4mal vorbehandelten Tieren macht sich aber der günstige Einfluß der größeren Antigenmenge — im vorliegenden Versuche eine 20mal größere Dosis — deutlich bemerkbar. Damit stimmen auch die Versuchsergebnisse von Friedberger und Moreschi (2) bei Verwendung verschiedener Antigene überein. Also auch für die Bildung von Agglutininen scheint die Menge des eingeführten Antigens nicht ohne Bedeutung zu sein, jedoch schwanken die zur Erzielung eines hohen Titers nötigen Impfstoffdosen noch innerhalb ziemlich weiter Grenzen; für die Antitoxinproduktion sind diese viel schärfer gezogen[1]).

---

[1]) Nach Abschluß dieser Untersuchungen ist eine Arbeit von **Weber** (11) erschienen, die sich in eingehender Weise mit der Frage der Schutimpfung gegen Typhus und Cholera befaßt. Die Versuche zeigen, daß die aktive Immunität der

Schließlich sollen noch, mit Rücksicht auf die dargelegten Unterschiede im agglutinogenen Verhalten der karbolisierten und erhitzten Bakterienaufschwemmungen, die früher angeführten Versuche über die Avidität der beiden Serumgruppen besprochen werden. Die gleiche Avidität der durch 1malige und mehrmalige Injektion erhitzter Bakterienaufschwemmungen dargestellten Agglutinine ist ohne weiteres verständlich, denn infolge der guten Resorbierbarkeit dieses Antigens wird durch die 1malige Einspritzung einer bestimmten Menge ungefähr derselbe Titer und dieselbe Intensität der Antikörperproduktion erreicht, wie durch Einverleibung derselben Dosis mittels mehrerer Injektionen; also es besteht die von Müller (12) angenommene Abhängigkeit der Avidität von der Intensität der Antikörperproduktion.

Auch die mit karbolisierter Typhusaufschwemmung — sowohl die mit 4 ccm als die mit 0,2 ccm — gewonnenen Immunsera hatten nach 1maliger oder 4maliger Injektion trotz des bedeutend höheren Agglutinationstiters nach wiederholter Einspritzung annähernd gleiche Absorptionskoeffizienten. Zur Erklärung dieses Befundes kann man annehmen, daß, infolge der schweren Resorbierbarkeit des karbolisierten Antigens, nur sehr wenige Zellen zu diesem in Beziehung treten, diese aber intensiv Agglutinine produzieren; es wären also ähnliche Verhältnisse, wie sie Rintelen (12) bei der subkutanen Injektion von Typhusbakterien bei Kaninchen gefunden hat. Auch da ergaben sich, wegen schlechterer Resorptionsverhältnisse und daher Beteiligung nur weniger benachbarter Zellgruppen an der Antikörperbildung, Sera von niederem Titer und relativ hoher Avidität. Nach wiederholter Injektion der Karbolbakterien können aber, infolge erfolgter Aufschließung des Antigens, auch entferntere neue Zellgruppen an der Agglutininproduktion teilnehmen; daher Bildung reichlicher Agglutinine mit relativ niederer Avidität. Diese nach wiederholten Injektionen gebildeten Agglutinine niederer Avidität müssen natürlich, da die Avidität dieser Sera aus der Avidität der Agglutinine der einzelnen Immunisierungsperioden resultiert, auf die nach der ersten Injektion entstandenen Antikörper relativ höherer Avidität im Sinne einer Herabsetzung des Absorptionskoeffizienten wirken. Daher weisen die durch wiederholte Einspritzungen von karbolisierten Bakterien hergestellten Immunsera, trotz ihres bedeutend höheren Titers, eine ungefähr gleiche Avidität auf wie die Sera nach 1maliger Vorbehandlung.

Zusammenfassung.

Das wichtigste Ergebnis der vorliegenden Versuche ist, kurz zusammengefaßt, folgendes: Die Löslichkeitsverhältnisse, beziehungsweise die gute Resorbierbarkeit des Antigens ist von größter Bedeutung für den Verlauf des Immunisierungsprozesses. Antigene, in leicht assimilierbarer Form, wie das Tetanustoxin und erhitzte Bakterienaufschwemmungen, bewirken schon nach 1maliger Injektion einer bestimmten Menge

---

vorbehandelten Meerschweinchen, die bei diesen Infektionen allerdings der Menge der im Blute nachweisbaren bakteriziden Stoffe nicht zu entsprechen braucht, bei Verwendung größerer Impfstoffdosen sicherer eintritt, wenngleich die Vorbehandlung mit nur $^{1}/_{20000}$ Oese Typhuskultur noch deutlich nachweisbare Immunität zur Folge hatte.

annähernd gleich starke Antikörperproduktion, wie dieselbe Antigenmenge, auf mehrere Injektionsdosen verteilt.

Ganz anders verhalten sich die schwer resorbierbaren Antigene mit großen Molekularkomplexen, wie karbolisierte Bakterienaufschwemmungen in den angeführten Versuchen. Nach 1maliger Injektion einer solchen Aufschwemmung werden durchschnittlich nur verhältnismäßig wenig Agglutine gebildet, weil eben nur so geringe Agglutinogenmengen resorbiert werden, daß nur einzelne besonders geeignete Tiere mit stärkerer Agglutininproduktion reagieren. Wird aber dieselbe Antigenmenge mittels mehrerer Injektionen einverleibt, so vermag der Organismus, der nach der 1. Injektion bereits Mittel besitzt, um aus den in den folgenden Einspritzungen zugeführten Bakterien Agglutinogen frei zu machen, Agglutinine in reichlichem Maße zu bilden. In diesem Falle besteht also im Gegensatze zu der anderen Gruppe von Antigenen ein wesentlicher Unterschied zwischen 1maliger und wiederholter Antigenzufuhr.

Zwischen Antitoxinproduktion und Menge des eingespritzten Toxins besteht ein direkter Zusammenhang insofern, als ziemlich genau begrenzte Toxindosen zur Hervorrufung eines entsprechenden Antitoxingehaltes im Blutserum nötig sind.

Auch für die Agglutininbildung dürfte die Quantität des Antigens nicht ohne Bedeutung sein, da im Durchschnitte durch größere Antigendosen bessere Resultate erzielt werden als durch kleinere, jedoch sind die Mengen, die im Einzelfalle zur Erreichung desselben Titers genügen, außerordentlich verschieden.

Literatur.

1) Friedberger u. Dorner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38.
2) Friedberger u. Moreschi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39.
3) v. Eisler, Wien. klin. Wochenschr. 1915.
4) Loewenstein, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 62, u. v. Eisler u. Loewenstein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61.
5) Pick, E., Kolle-Wassermann, 2. Aufl. Bd. 1.
6) Neisser u. Shiga, Deutsch. med. Wochenschr. 1901.
7) Pick, E., Hofmeisters Beitr. Bd. 1.
8) Brieger u. Schütze, Deutsch. med. Wochenschr. 1902.
9) Mayer, M., Deutsch. med. Wochenschr. 1904.
10) Pick E., u. Schwarz, O., Biochem. Zeitschr. Bd. 15.
11) Weber, Zeitschr. für Hyg. Bd. 82. H. 3.
12) Busson, Müller u. Rintelen, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 7.

Nachdruck verboten.

Ueber das Wachstum von Coli-Bakterien auf Lackmusmannitagar.

[Aus dem Bakteriologisch-serologischen Untersuchungsamt Altona (Vorstand: Oberarzt Dr. Zeißler).]

Von Prof. Dr. **G. Gaßner**-Rostock, zurzeit Altona.

Unter der obigen Ueberschrift hat vor kurzem H. Wollin[1]) einen Beitrag zur Physiologie der Coli-Bakterien gebracht und seine Beobachtungen zu Rückschlüssen über die Vererbung des Mannitgärungsvermögens der Coli-Bakterien benutzt. Auf Lackmusmannitagar wuchsen Coli-Bakterien bald rot, bald blau; Ueberimpfungen von rein roten oder rein blauen Kolonien ergaben, daß „jedesmal eine weitere Aufspaltung erfolgt, derart, daß sowohl von rein blauen als von rein roten Kolonien blaue und rote abstammen. Außerdem fanden sich Uebergangsformen“. Das Verhalten älterer und jüngerer Kulturen war verschieden, „was den Erfahrungen über Mutation gut entspricht“.

Es sei der Frage hier nicht näher getreten, ob vererbungstheoretische Kenntnisse formell und inhaltlich richtig zur Deutung der vom Verf. gemachten tatsächlichen Beobachtungen herangezogen sind; so kann schon die übliche Uebertragung des Wortes „Generation“ auf die aus der 1., 2., 3. Ueberimpfung entstandenen Kolonien zu Bedenken Anlaß geben. Mir kommt es hier vor allem darauf an, nachzuprüfen, ob und in welchem Umfange die tatsächlichen Beobachtungen des Autors richtig sind, und ob sie überhaupt eine Grundlage zu weiteren Schlüssen, insbesondere über die Vererbung des Mannitgärungsvermögens, abgeben können.

Bereits v. Drigalski und Conradi[2]) hatten beobachtet, daß Coli-Bakterien auf Lackmusmannitagar rot und blau wachsen können, und Wollin konnte diese Beobachtung dahin ergänzen, daß sich aus rein roten oder rein blauen Kolonien jedesmal wieder sowohl rote wie blaue Kolonien entwickeln. Es handelt sich nun um die Frage, ob, wie Wollin will, „das Säuerungsvermögen der Coli-Bazillen in bezug auf Mannit ein fluktuierendes individuelles ist, das den einzelnen Keimen leicht verloren geht, aber auch ... leicht wiedergewonnen wird“, oder aber, ob dieses Bild des „fluktuierenden Säuerungsvermögens“ nur vorgetäuscht wird.

Rotes Wachstum der Coli-Keime auf Lackmusagar beweist natürlich Säurebildung, blaues deutet auf Alkalibildung hin. Wir wissen nun seit langem, daß auf Nährböden mit geeigneten C- und N-Verbindungen beide Prozesse nebeneinander verlaufen, indem aus Zuckerarten oder mehrwertigen Alkoholen Säure, aus Stickstoffverbindungen Alkali gebildet wird. Von vornherein ist anzunehmen, daß auf verhältnismäßig C-reichem Nährboden die Säurebildung, auf verhältnismäßig N-reichem Nährboden die Alkalibildung überwiegt und das Farbenbild bestimmt. Normaler Drigalski-Agar mit einem Milchzuckergehalt von mehr als 1 Proz. läßt Coli-Keime rot wachsen, der gleiche Agar mit weniger als $^1/_2$ Proz. Milchzucker dagegen blau. Selbstverständlich muß es auch eine Nährbodenzusammensetzung geben, bei der Säure- und Alkalibildung sich annähernd das Gleichgewicht halten; das ist z. B. der Fall bei dem von Kashida[1]) beschriebenen, auf dem die Coli-Keime zuerst rot, dann nach erfolgter Aufzehrung des Milchzuckers infolge der nunmehr überwiegenden Alkalibildung blau wachsen.

---

[1]) Wollin, H., Ueber das Wachstum von Coli-Bakterien auf Lackmusmannitagar. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1916. S. 284.)

[2]) v. Drigalski u. Conradi, H., Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbazillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902. S. 283.)

Die gleiche Bedeutung des Verhältnisses von Säure- zu Alkalibildung muß natürlich auch für Mannitnährböden vorliegen, und zur Beurteilung der Ergebnisse von Mannitgärungsversuchen ergibt sich die Forderung, zunächst einmal darüber ins klare zu kommen, bei welcher Mannitkonzentration die Säurebildung, bei welcher die Alkalibildung überwiegt, bzw. bei welcher Konzentration sich Säure- und Alkalibildung das Gleichgewicht halten. Dieser Versuch ist durchgeführt und in den folgenden Tabellen 1a und 1b wiedergegeben; die Beobachtungen erstrecken sich auf 2 Coli-Stämme, 2 Typhusstämme, 1 Paratyphus B und 1 Ruhr Y.

Tabelle 1a.

Versuch mit Lackmusmannitagar verschiedenen N- und verschiedenen Mannitgehaltes.

Zusammensetzung des Nährbodens	1a—f	2a—f	3a—f
Fleischwasser	1000 g	500 g	100 g
destilliertes Wasser	—	500 "	900 "
Pepton	10 "	5 "	1 "
Nutrose	10 "	5 "	1 "
Agar	30 "	30 "	30 "
NaCl	5 "	5 "	5 "
	schwach lackmusalkalisch	schwach lackmusalkalisch	schwach lackmusalkalisch

Zu je 80 ccm obigen Nährbodens 20 ccm Lackmuslösung verschiedenen Mannitgehaltes.

No.	N-Gehalt des Nährbodens	Mannit god. Proz.	Färbung nach 22 Stunden					
			B. coli III	B. coli IV	Typhus III	Typhus IV	Paratyphus B	Ruhr Y
1a	Fleischwasser + 1 Proz. Pepton + 1 Proz. Nutrose	0,1	blau	blau	blau	blau	blau	blau
1b	dgl.	0,25	"	"	rot	rot	"	"
1c	dgl.	0,5	$^1/_2$ blau $^1/_2$ rot	$^2/_8$ blau $^1/_3$ rot	"	"	rot	$^1/_4$ blau $^3/_4$ rot
1d	dgl.	0,75	$^1/_4$ blau $^3/_4$ rot	$^1/_2$ blau $^1/_2$ rot	"	"	"	rot
1e	dgl.	1	rot	$^1/_5$ blau $^4/_5$ rot	"	"	"	"
1f	dgl.	1,5	"	rot	"	"	"	"

---

1) Kashida, K., Differenzierung der Typhusbazillen von Bacterium coli commune durch die Ammoniakreaktion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 21. 1897. S. 802.)

No.	N.-Gehalt des Nährbodens	Mannit god. Proz.	Färbung nach 22 Stunden					
			B. coli III	B. coli IV	Typhus III	Typhus IV	Paratyphus B	Ruhr Y
2a	1/2 Fleischwasser + 1/2 Proz. Pepton + 1/2 Proz. Nutrose	01,	blau	blau	Spur rot sonst blau	rot	blau	blau
2b	dgl.	0,25	„	„	rot	„	1/10 blau 9/10 rot	„
2c	dgl.	0,5	1/2 blau 1/2 rot	4/5 blau 1/5 rot	„	„	rot	rot
2d	dgl.	0,75	rot	rot	„	„	„	„
2e	dgl.	1	„	„	„	„	„	„
2f	dgl.	1,5	„	„	„	„	„	„
3a	1/10 Fleischwasser + 1/10 Proz. Pepton + 1/16 Proz. Nutrose	0,1	blau	blau	rot	rot	rot	blau
3b	dgl.	0,25	rot	rot	„	„	„	rot
3c	dgl.	0,5	„	„	„	„	„	„
3d	dgl.	0,75	„	„	„	„	„	„
3e	dgl.	1	„	„	„	„	„	„
3f	dgl.	1,5	„	„	„	„	„	„

Tabelle 1b. (Fortsetzung von Tabelle 1a.)

No.	N-Gehalt des Nährbodens	Mannit god. Proz.	Färbung nach 46 Stunden					
			B. coli III	B. coli IV	Typhus III	Typhus IV	Paratyphus B	Ruhr Y
1a	Fleischwasser + 1 Proz. Pepton + 1 Proz. Nutrose	0,1	blau	blau	blau	blau	blau	blau
1b	dgl.	0,25	„	„	9/10 blau 1/10 rot	rot	„	„
1c	dgl.	0,5	„	„	rot	„	1/10 blau 9/10 rot	„
1d	dgl.	0,75	„	„	„	„	rot	rot
1e	dgl.	1	„	„	„	„	„	„
1f	dgl.	1,5	rot	rot	„	„	„	„
2a	1/2 Fleischwasser + 1/2 Proz. Pepton + 1/2 Proz. Nutrose	0,1	blau	blau	blau	1/2 blau 1/2 rot	blau	blau
2b	dgl.	0,25	„	„	rot	rot	1/4 blau 3/4 rot	„
2c	dgl.	0,5	„	„	„	„	rot	rot
2d	dgl.	0,75	„	4/5 blau 1/5 rot	„	„	„	„
2e	dgl.	1	rot	rot	„	„	„	„
2f	dgl.	1,5	„	„	„	„	„	„
3a	1/10 Fleischwasser + 1/10 Proz. Pepton + 1/10 Proz. Nutrose	0,1	blau	blau	rot	rot	rot	blau
3b	dgl.	0,25	1/10 blau 9/10 rot	1/10 blau 9/10 rot	„	„	„	rot
3c	dgl.	0,5	rot	rot	„	„	„	„
3d	dgl.	0,75	„	„	„	„	„	„
3e	dgl.	1	„	„	„	„	„	„
3f	dgl.	1,5	„	„	„	„	„	„

In dem vorstehenden Versuch haben Nährböden verschiedenen N- und verschiedenen Mannitgehaltes Verwendung gefunden; Serie 1a—f hat den höchsten N-Gehalt (Fleischwasser + 1 Proz. Pepton + 1 Proz. Nutrose), bei 2a—f beträgt der N-Gehalt die Hälfte, bei 3a—f nur den zehnten Teil desjenigen von 1a—f. Der Mannitgehalt wurde zwischen 0,1 und 1,5 Proz. variiert.

Sowohl für Bacterium coli, wie für Typhus, Paratyphus B und Ruhr, läßt sich in gleicher Weise beobachten, daß das gegenseitige Verhältnis von N- und C-Gehalt das Farbenbild bestimmt; es gibt also keine absolute Grenzbestimmung desjenigen Mannitgehaltes, oberhalb dessen eine bestimmte Bakterienart unter allen Umständen Säurebildung zeigt. Für alle untersuchten Bakterienarten läßt sich vielmehr in gleicher Weise beobachten, daß auf N-reichen Nährböden die Säurebildung erst bei ungleich höheren Mannitkonzentrationen zutage tritt als auf N-armen; so ist nach 46-stündiger Versuchsdauer eine solche für Bacterium coli auf N-reichem Nährboden (Serie 1a—f) erst bei einer Mannitkonzentration von 1,5 Proz., auf N-armem Nährboden (Serie 3a—f) dagegen schon bei einer solchen von nur 0,25 Proz. zu beobachten; ähnliche, nur quantitativ verschiedene Verschiebungen zeigen die anderen untersuchten Bakterien: Typhus, Paratyphus B und Ruhr Y; Paratyphus B nimmt auch hier, wie ja auch sonst, eine Mittelstellung zwischen Typhus und B. coli ein.

Das beobachtete Bild ist je nach Versuchsdauer verschieden. Aus einem Vergleich, der nach 22 und 46 Stunden gemachten Beobachtungen folgt, daß bei kürzerer Versuchsdauer eine Säurebildung noch bei Mannitkonzentrationen zu beobachten ist, die bei längerer Versuchsdauer wieder ein blaues Wachstum, also Alkalibildung statt der ursprünglichen Säurebildung bedingen. Die Erscheinung ist sichtlich so zu erklären, daß anfänglich der betreffende Mannitgehalt zu einer die gleichzeitige Alkalibildung überwiegenden Säurebildung ausreicht, nach Vergärung des zur Verfügung stehenden Mannits dann aber die Alkalibildung überwiegt; auch im Hinblick auf dies zeitlich verschiedene Bild kann eine eindeutige Festsetzung derjenigen Konzentration, oberhalb deren unter allen Umständen Rotfärbung, also Säurebildung kenntlich wird, nicht erwartet werden.

Was nun speziell das Mannitgärungsvermögen der Coli-Bakterien anbetrifft, so ergeben die Beobachtungen der Tabelle 1a und 1b, daß auf Lackmusmannitagar mit vollem N-Gehalt (Serie 1a—f) nach 22-stündiger Bebrütung Mannitkonzentrationen unter 0,5 Proz. ein rein blaues, solche von etwa 1 Proz. an ein rein rotes Wachstum bedingen; nach 46-stündiger Bebrütung wächst Coli auch noch bei einem Mannitgehalt von 1 Proz. rein blau und erst bei 1,5 Proz. rot. Die entsprechenden Werte für Lackmusmannitagar mit verringertem N-Gehalt (Serien 2a—f und 3a—f) liegen bei ungleich tieferen Mannitkonzentrationen und interessieren hier nicht weiter.

Damit komme ich auf die von Wollin gemachten Feststellungen zurück. Wir wissen nunmehr, daß auf Lackmusmannitagar vollen N-Gehaltes eine Mannitkonzentration um 1 Proz. herum diejenige ist, bei der sich Säurebildung und Alkalibildung annähernd das Gleichgewicht halten; denn hier können wir nach 22—46-stündiger Bebrütungszeit rotes und blaues Wachstum beobachten, nach kürzerer Bebrütungszeit mehr rotes, nach längerer mehr blaues Wachstum.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Da Wollin keine Einzelheiten darüber angibt, mit welcher Mannitkonzentration er gearbeitet hat, dürfen wir annehmen, daß die sonst übliche Konzentration von 1 Proz. zur Anwendung gekommen ist. Das ist aber gerade diejenige, bei der sich Alkali- und Säurebildung annähernd das Gleichgewicht halten, und dementsprechend rote und blaue Kolonien gleichzeitig auftreten müssen. Im Sinne dieser Deutung sprechen auch eine ganze Reihe von Einzelbeobachtungen Wollins. So bildeten die blauen Kolonien „eine sehr dichte Gruppe, die von Kolonien umsäumt ist, deren zentraler Teil blau ist, während der periphere rot erscheint“. Selbstverständlich, denn der innere (ältere) Teil hat das zur Verfügung stehende Mannit längst vergoren und zeigt daher überwiegende Alkalibildung. In der gleichen Weise erklärt sich das Bild des „großen bläulichen Rasens, der sich am Rande in rote und bläuliche Kolonien auflöst“, und der auch sonst stets beobachteten „blauen, in den Randteilen fast nur roten Kolonien“. Ferner sei darauf hingewiesen, daß nach den obigen Feststellungen mit zunehmender Versuchsdauer ein Uebergang von ursprünglich roten zu blauen Kolonien zu beobachten ist, wodurch natürlich das Farbenbild mannigfaltiger wird. Man vergleiche damit, was Wollin sagt: „Namentlich bei älteren Kulturen ist die Mannigfaltigkeit eine größere, während sich bei ganz jungen Kulturen nur wenige Abweichungen finden, was den Erfahrungen über Mutation gut entspricht.“ Im übrigen sei noch erwähnt, daß auch die Schichtdicke des Mannitagar das Farbenbild mitbestimmt. Meine obigen Angaben (Tabelle 1a und 1b) beziehen sich auf eine normale Schichtdicke von ca. 2 mm; bei ungleicher Schichtdicke machen sich Abweichungen in dem Sinne geltend, daß ceteris paribus auf dünner gegossenen Platten in höherem Maße blaues, auf dickeren in höherem Maße rotes Wachstum zu beobachten ist. Auch dieser Punkt ist von Wollin nicht berücksichtigt.

Die ganzen Beobachtungen Wollins sind also in einfachster Weise dahin zu erklären, daß dieser Autor mit einer Mannitkonzentration gearbeitet hat, bei welcher sich Alkali- und Säurebildung das Gleichgewicht halten, ein anderes Ergebnis als teilweise rotes, teilweise blaues Wachstum daher gar nicht erwartet werden kann. Die von Wollin angewandte Versuchsanstellung ist demnach zur Prüfung der Frage, ob und in welcher Weise sich das Mannitgärungsvermögen der Coli-Bakterien vererbt, ungeeignet. Dementsprechend fallen alle die wunderlichen Vererbungsgesetze, die Wollin fand, in sich zusammen, und es ist zu wünschen, daß sie nicht weiter in der bakteriologischen Literatur Berücksichtigung finden. Das Gleiche gilt für die sonstigen Schlußfolgerungen desselben Autors. Wenn z. B. das Mannitgärungsvermögen „eine Eigenschaft von untergeordneter Bedeutung für die naturwissenschaftliche Klassifikation“ genannt, und die für B. coli gemachten Befunde ohne weiteres auf „alle anderen Bakterien“ übertragen werden, so muß auch dagegen Einspruch erhoben werden. Das eine Gute dürften allerdings die Ausführungen Wollins haben, daß sie nämlich dazu anregen, nicht nur für B. coli, sondern für „alle anderen Bakterien“ die Bedingungen der Mannitgärung in ihrer Abhängigkeit vom C- und N-Gehalt des Nährbodens ausführlich zu untersuchen und so die vielfachen Widersprüche über schwankendes Mannitgärungsvermögen in wünschenswerter Weise klarzustellen.

Nachdruck verboten.

Hefewassernährböden und ihre Bewertung.

[Aus dem Bakteriologisch-serologischen Untersuchungsamt Altona
(Vorstand: Oberarzt Dr. Zeißler).]

Von Prof. Dr. **G. Gaßner**-Rostock, zurzeit Altona.

Die zur Herstellung unserer Nährböden verwendete Fleischbouillon gibt zwar einen guten Nährboden für die meisten Bakterien ab, hat jedoch den großen Nachteil, besonders kostspielig zu sein. Es gilt das im besonderen Maße für Rindfleischbouillon, so daß man in den letzten Jahren, namentlich während des Krieges, mehr und mehr zur Verwendung von Pferdefleischbouillon übergegangen ist. Geilinger[1]) betont zwar neuerdings, daß Pferdefleischagar dem Rindfleischagar durchaus nicht gleichwertig sei, indem z. B. Bacterium dysenteriae, B. typhi u. a. eine „deutliche Bevorzugung des Rindfleischagars" zeigen; jedoch beweist gerade die augenblickliche weit verbreitete Verwendung des Pferdefleisches zur Nährbodenbereitung, und zwar gerade auch zu Nährböden für Ruhr- und Typhusdiagnose, daß die von Geilinger ausgesprochene Warnung vor dem Pferdefleischagar sich kaum voll aufrecht erhalten läßt.

Das gleiche Bedenken der Kostspieligkeit, das zum Uebergang von der Rindfleisch- zur Pferdefleischbouillon geführt hat, macht sich nun aber neuerdings in immer steigendem Maße auch gegenüber der letzteren selbst geltend. So beträgt der gegenwärtige, amtlich festgesetzte Preis für Pferdefleisch in Hamburg-Altona 3,60 für 1 kg, womit sich die Herstellungskosten von 1 l Nährbouillon auf etwa 2,70 M. stellen.

Zu berücksichtigen ist weiter, daß wir in gegenwärtiger Zeit darauf bedacht sein müssen, möglichst wenig Fleisch der Volksernährung zu entziehen. Auch ein Erlaß des preußischen Kriegsministeriums vom 29. Nov. 1916 erwähnt ausdrücklich die „Schwierigkeit, Fleisch oder Fleischextrakt für die Nährbödenbereitung in genügenden Mengen zur Verfügung zu stellen".

Zur Herabsetzung der zur Nährbodenbereitung nötigen Fleischmengen liegt es zunächst nahe, die nötige Fleischbouillon dadurch zu „strecken", daß das Fleisch mit einer größeren Wassermenge, als die Vorschriften ergeben, extrahiert wird. Allerdings muß bereits eine ältere Beobachtung von v. Drigalski und Conradi[2]) zu denken geben, die ein besseres Typhuswachstum dadurch erzielten, daß sie 1,5 kg Fleisch mit nur 2 l Wasser ansetzten. Möglichst konzen-

---

[1]) Geilinger, H., Notiz zur Frage der Verwendbarkeit des Pferdefleischagars für die Bakteriendiagnostik. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1916. S. 446.)

[2]) v. Drigalski und Conradi, Ueber ein Verfahren zum Nachweis von Typhusbazillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902. S. 283.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

trierte Fleischsaftlösung ist demnach eine Grundbedingung zur Schaffung optimaler Wachstumsbedingungen für Typhusbakterien, und die folgende Versuchsreihe zeigt, daß man in der Tat im Heraufgehen des Wasserzusatzes sehr vorsichtig sein muß, wenn man nicht durch verkehrte Sparsamkeit das ganze Untersuchungsergebnis gefährden will.

Zur besseren Uebersichtlichkeit der Wachstumsunterschiede sei die folgende Skala zugrunde gelegt. Es bedeutet:

0 = kein Wachstum,
1 = äußerst zartes Wachstum, Kolonien einen leichten, kaum wahrnehmbaren Hauch auf dem Impfstrich bildend,
2 = zartes Wachstum, Kolonien den Bruchteil eines Millimeters groß, aber doch deutlich wahrnehmbar,
3 = mittleres Wachstum, Kolonien etwa 1 mm groß,
4 = gutes Wachstum, Kolonien bis 3 mm groß,
5 = sehr gutes Wachstum, Kolonien äußerst üppig, wie z. B. Bacterium coli auf eiweißreichen Nährböden mittleren Zuckergehaltes.

Feinere Unterschiede sind in der folgenden Weise angedeutet: das Zeichen ! bedeutet ein etwas besseres, eine Klammer ( ) ein etwas schlechteres Wachstum, als die betreffende Zahl angibt. Bei gleichzeitiger Anführung von 2 Zahlen liegt der beobachtete Wachstumsgrad in der Mitte zwischen den angeführten Zahlen.

Die Hauptversuche wurden mit Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe durchgeführt. Geimpft wurde mit Aufschwemmungen der betreffenden Bakterien; zur Verwendung kamen in jeder einzelnen Versuchsreihe mehrere Coli- und Typhusstämme. Im Hinblick auf die übereinstimmenden Ergebnisse genügt es, die Beobachtungen nur eines Stammes mitzuteilen:

Tabelle 1.

Versuch mit Fleischsaftagar verschiedenen Fleischsaftgehaltes.

Nährboden: 1000 g Fleischsaft verschiedener Konzentration } schwach lackmusalkalisch
30 g Agar
5 g NaCl

Zu je 80 ccm dieses Nährbodens 20 ccm Lackmuslösung ohne, bzw. mit Milchzucker.

No.	Fleischsaftkonzentration	Milchzucker g oder Proz.	Wachstumsintensität nach 22 Stunden				
			B. coli	Typhus	Paratyphus B	Ruhr Y	B. alcaligenes
1a	1,5 kg Fleisch auf 2 l Wasser	0	(4)	3	3 !	3—4	(2)
1b	dgl.	0,3	4 !	(3)	3	3 !	2
1c	dgl.	5	3 !	3	3	3 !	2
2a	1,5 kg Fleisch auf 4 l Wasser	0	3—4	2 !	2 !	(3)	(2)
2b	dgl.	0,3	3—4	2 !	2 !	2—3	(2)
2c	dgl.	5	3 !	1—2	2	(3)	1—2
3a	1,5 kg Fleisch auf 8 l Wasser	0	(3)	(2)	(2)	2—3	1
3b	dgl.	0,3	(3)	(2)	1 !	2—3	(1)
3c	dgl.	5	3	1—2	1	2 !	(1)

Der vorstehende Versuch wurde mehrfach wiederholt; er führte stets zu dem Ergebnis, daß sich mit dem Heruntergehen der Konzentration des Fleischwassers ein sehr schnelles Nachlassen des Bakterienwachstums einstellt. Um daher, wie z. B. bei Stuhluntersuchungen, brauchbare Ergebnisse zu erzielen, muß es notwendig erscheinen, den Fleischsaftagar in der von v. Drigalski und Conradi[1]) vorgeschlagenen Konzentration zu verwenden, namentlich da nach weiteren, hier nicht im einzelnen mitzuteilenden Versuchen die übliche Beigabe von Pepton und Nutrose einen vollen Ersatz für fehlende Fleischsaftkonzentration nicht immer zu bieten vermag.

Aus Gründen der Sparsamkeit, vielfach wohl auch im Hinblick auf die bequemere Darstellung, wird in manchen Laboratorien an Stelle des Fleischsaftes Fleischextrakt verwendet. So sind z. B. auch die neueren Untersuchungen von Guth[2]) mit derartigem Extraktagar durchgeführt; jedoch spricht auch dieser Autor selbst die bereits von anderer Seite beobachtete und auch von mir in eigenen Versuchen bestätigte Tatsache aus, daß das Wachstum auf Extraktagar demjenigen auf Rindfleischbouillonagar nachsteht. So ist es kein Fehler, die Verwendung von Fleischextrakt zur Nährbodenbereitung fallen zu lassen, vor allem auch, da heutzutage Fleischextrakt ebenfalls nur zu hohen Preisen erhältlich ist.

Weiter liegt es nahe, einen Ersatz der Fleischbouillon in der Weise zu suchen, daß einer anorganischen Salzlösung leicht erhältliche Eiweißpräparate zugesetzt werden. Meine bisherigen, in dieser Richtung liegenden Versuche sind jedoch nicht sehr ermutigend, da vor allem die pathogenen Keime stets nur ein sehr zartes Wachstum aufwiesen. Zur Untersuchung gelangten Nährstoff Heyden, Pepton, Nutrose, Tropon, Gluton, Gelatine, Somatose, Sanatogen, Bioson, außerdem Harnstoff und Asparagin, die in Konzentrationen von 1 und 2 Proz. der von A. Meyer[3]) empfohlenen anorganischen Salzlösung zugefügt waren.

So scheinen wir nach wie vor auf die in ihrer Zusammensetzung schwankenden und chemisch nicht eindeutig definierbaren Abkochungen organischen Materiales angewiesen. Es ist bekannt, daß außer Abkochungen tierischen Fleisches auch Extrakte pflanzlicher Produkte eine gewisse Rolle in der Bakteriologie, auch der medizinischen Bakteriologie spielen. Heuabkochungen und Kartoffelsaftnährböden pflegen in jedem Handbuch der Bakteriologie aufgeführt zu sein, und neuere Vorschriften zur Nährbodenbereitung aus pflanzlichen Ausgangsprodukten sind in letzter Zeit mehrfach veröffentlicht[4]).

Störend bei solchen Nährböden ist meist das von den Fleischnährböden wesentlich abweichende Verhältnis von N- und C-Verbindungen. Fleischbouillon ist eiweißreich und enthält höchstens geringe Zuckermengen; Abkochungen pflanzlicher Produkte zeigen demgegenüber einen hohen Gehalt an Kohlehydraten und verwandten Stoffen und sind andererseits eiweißarm, weil sich eben das Ausgangsmaterial haupt-

---

1) v. Drigalski u. Conradi, l. c.

2) Guth, F., Selennährböden für die elektive Züchtung von Typhusbazillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1916. S. 487.)

3) Meyer, A., Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903. S. 15.

4) Gaethgens, W., Ueber die Verwendung von Kartoffelwasser zur Herstellung fester Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. S. 45.) — Guth, F., Wiederholte Benutzung von Bakteriennährböden und Ersatz von Fleischextrakt durch Pflanzenextrakte. (Deutsch. med. Wochenschr. 1915. S. 1544.)

sächlich aus C-Verbindungen und nur zu einem sehr geringen Teil aus eiweißartigen Stoffen aufbaut. Dementsprechend können Abkochungen pflanzlicher Produkte einen vollwertigen Ersatz der Fleischbouillon nicht liefern, sondern sind meist nur für ganz bestimmte Zwecke, wie z. B. für Nährbodenbereitung zur Impfstoffgewinnung brauchbar.

Nur bei einer Gruppe niederer pflanzlicher Organismen besteht die Trockensubstanz zur Hauptsache aus Eiweiß; es sind das die Hefezellen. Hefe ist außerdem ein Material, das in beliebigen Mengen und zu einem sehr billigen Preise überall erhältlich ist. So liegt es nahe, gerade in Hefeabkochungen einen wirklich vollwertigen Ersatz der Fleischbouillon zu vermuten und speziell ihre Verwendbarkeit zur Kultur pathogener Keime einer eingehenden Prüfung zu unterziehen. Das Ergebnis wird zeigen, daß in der Tat Hefeabkochungen einen zum mindesten vollwertigen, wenn nicht überlegenen und dabei überaus billigen Ersatz für die kostspielige Fleischbouillon abgeben.

Die Bereitung der Hefebouillon ist durchaus nicht umständlicher als die des Fleischwassers, indem an Stelle der Fleischzerkleinerung das Waschen der Hefe tritt. Als Ausgangsmaterial dient, aus später zu erörternden Gründen, die sogenannte Breihefe, d. h. der Hefebodensatz der Gärbottiche der Brauereien. 10 l Breihefe werden in einem etwa dreimal so großen Behälter dadurch gut ausgewaschen, daß man Wasser zugibt, umrührt, etwa $^1/_2$ Stunde abstehen läßt und das über dem Hefesatz stehende Wasser abschüttet. Der Waschprozeß wird so oft wiederholt, bis das abgeschüttete Wasser nicht mehr braun, sondern hell-trübe ist; ein 5maliger Wasserwechsel ist meist ausreichend. Nach dem letzten Wasserwechsel wird die zurückbleibende Hefe mit Wasser auf 18 l aufgefüllt; dann wird, genau wie zur Erzielung der Fleischbouillon, im Autoklaven oder Dampftopf aufgekocht. Man läßt dann zweckmäßig absetzen, hebert die über dem Bodensatz stehende Flüssigkeit ab oder filtriert durch Filtrierpapier. Die erhaltene Hefebouillon stellt eine hellbräunliche, sehr angenehm riechende Flüssigkeit dar, die in derselben Weise verwendet wird wie Fleischbouillon.

Zunächst sei in der folgenden Tabelle 2 eine gleichzeitig mit den Versuchen von Tabelle 1 durchgeführte Versuchsreihe wiedergegeben, in welcher statt Fleischwasser derartiges Hefewasser Verwendung fand. Von einem Pepton- oder Nutrosezusatz wurde, genau wie in den Versuchen der Tabelle 1, Abstand genommen, so daß das Bakterienwachstum ausschließlich auf Rechnung des Hefeextraktes zu setzen ist.

Ein Vergleich der in Tabelle 1 und 2 gefundenen Wachstumsintensitäten spricht zugunsten des Hefewassers. Bei gleicher Verdünnung der Hefe- bzw. Fleischextrakte (Versuch 1a—c, 2a—c, 3a—c) werden durchschnittlich auf Hefewasser deutlich bessere Wachstumswerte erzielt als auf Fleischwasser, so daß also Hefewasser der erwähnten Darstellung für die Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe einen besseren Nährboden abgibt als der von v. Drigalski und Conradi empfohlene Fleischextrakt (1,5 kg Fleisch auf 2 l Wasser).

Es ergibt sich das nun nicht nur aus dem Vergleich der Wachstumsintensitäten, sondern in noch deutlicherer Weise aus den Beobach-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle 2.

Versuch mit Hefesaftagar verschiedenen Hefesaftgehaltes.

Nährboden: 1000 g Hefewasser (unverdünnt und verdünnt) } schwach lackmus-alkalisch
30 g Agar
5 g NaCl

Zu je 80 ccm dieses Nährbodens 20 ccm Lackmuslösung ohne, bzw. mit Milchzucker.

No.	Hefewasserkonzentration	Milchzucker g oder Proz.	Wachstumsintensität nach 22 Stunden				
			B. coli	Typhus	Paratyphus B	Ruhr Y	B. alcaligenes
1a	Hefewasser unverdünnt	0	4	3!	(4)	3—4	3—4
1b	dgl.	0,3	(5)	3!	(4)	3—4	3
1c	dgl.	5	3—4	3	3—4	3	3
2a	$^1/_2$ Hefewasser + $^1/_2$ dest. Wasser	0	3—4	3	3—4	3!	3
2b	dgl.	0,3	4!	(3)	3—4	3	(3)
2c	dgl.	5	3—4	(3)	3—4	3!	3
3a	$^1/_4$ Hefewasser + $^3/_4$ dest. Wasser	0	(3)	2—3	2—3	(3)	2!
3b	dgl.	0,3	3!	2	(3)	2!	2!
3c	dgl.	5	3	(2)	2—3	2!	1—2
4a	$^1/_8$ Hefewasser + $^7/_8$ dest. Wasser	0	2—3	1—2	1—2	(2)	0—1
4b	dgl.	0,3	(3)	1—2	1—2	2	(1)
4c	dgl.	5	(3)	1!	1—2	(2)	0—1
5a	$^1/_{16}$ Hefewasser + $^{15}/_{16}$ dest. Wasser	0	2	0—1	1!	1—2	0—1
5b	dgl.	0,3	2!	0—1	(1)	1—2	0—1
5c	dgl.	5	2!	0—1	(1)	1—2	0

tungen der Verfärbung des Lackmusnährbodens. Bereits aus den älteren Beobachtungen von Kashida 1) wissen wir, daß Bacterium coli auf Lackmusagar einerseits aus den vorhandenen N-haltigen Verbindungen des Nährbodens Alkali, andererseits aus einer etwaigen Zuckerquelle gleichzeitig Säure zu bilden vermag. Alkali- und Säurebildung wirken einander entgegen; in Nährböden, die eiweißreich und zuckerarm sind, wird die Alkalibildung, in eiweißarmen und zuckerreichen Nährböden dagegen die Säurebildung überwiegen. Konstanten Zuckergehalt eines Nährbodens vorausgesetzt, können wir daher aus einer Blaufärbung des Lackmusnährbodens auf N-Reichtum, aus einer Rotfärbung auf N-Armut schließen, genau so, wie uns bei gleichem N-Gehalt des Nährbodens Rot- oder Blaufärbung die relative Höhe des Zuckergehaltes andeutet.

Von diesem Gesichtspunkt aus sind die folgenden Beobachtungen zu bewerten, die den in Tabelle 1 und 2 dargestellten Versuchsreihen ent-

---

1) Kashida, K., Differenzierung der Typhusbazillen von Bacterium coli commune durch die Ammoniakreaktion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 21. 1897. S. 802.)

nommen sind. Ich beschränke mich darauf, die Beobachtungen an den beiden Stämmen von **Bacterium coli** wiederzugeben; da der verwendete Lackmusnährboden als C-Quelle stets nur Milchzucker enthielt, so können für Typhus, Paratyphus, Ruhr und B. **alcaligenes** keine entsprechenden Farbenumschläge erwartet werden.

Tabelle 3.

Beobachtungen über die Verfärbungen von Fleischsaft- bzw. Hefesaftlackmusagar durch Bacterium coli. (Fortsetzung von Tabelle 1 und 2.)

No.	Fleischwasserkonzentration	Milchzucker Proz.	Färbung des Nährbodens nach 22 Stunden		Färbung des Nährbodens nach 46 Stunden	
			B. coli I	B. coli II	B. coli I	B. coli II
1a	1,5 kg Fleisch auf 2 l Wasser	0	blau	blau	blau	blau
1b	dgl.	0,3	$^{8}/_{5}$ blau $^{2}/_{5}$ rot	$^{3}/_{5}$ blau $^{2}/_{5}$ rot	blau	blau
1c	dgl.	5	rot	rot	rot	rot
2a	1,5 kg Fleisch auf 4 l Wasser	0	blau	blau	blau	blau
2b	dgl.	0,3	rot	$^{1}/_{5}$ blau $^{4}/_{5}$ rot	$^{2}/_{5}$ blau $^{8}/_{5}$ rot	$^{4}/_{5}$ blau $^{1}/_{5}$ rot
2c	dgl.	5	rot	rot	rot	rot
3a	1,5 kg Fleisch auf 8 l Wasser	0	blau	blau	blau	blau
3b	dgl.	0,3	rot	rot	rot	rot
3c	dgl.	5	rot	rot	rot	rot
	Hefewasserkonzentration					
1a	Hefewasser unverdünnt	0	blau	blau	blau	blau
1b	dgl.	0,3	blau	blau	blau	blau
1c	dgl.	5	rot	rot	rot	rot
2a	$^{1}/_{2}$ Hefewasser + $^{1}/_{2}$ dest. Wasser	0	blau	blau	blau	blau
2b	dgl.	0,3	blau	blau	blau	blau
2c	dgl.	5	rot	rot	rot	rot
3a	$^{1}/_{4}$ Hefewasser + $^{3}/_{4}$ dest. Wasser	0	blau	blau	blau	blau
3b	dgl.	0,3	rot	$^{1}/_{2}$ blau $^{1}/_{2}$ rot	Spur rot sonst blau	blau
3c	dgl.	5	rot	rot	rot	rot
4a	$^{1}/_{8}$ Hefewasser + $^{7}/_{8}$ dest. Wasser	0	blau	blau	blau	blau
4b	dgl.	0,3	rot	rot	rot	rot
4c	dgl.	5	rot	rot	rot	rot
5a	$^{1}/_{16}$ Hefewasser + $^{15}/_{16}$ dest. Wasser	0	blau	blau	blau	blau
5b	dgl.	0,3	rot	rot	rot	rot
5c	dgl.	5	rot	rot	rot	rot

Der vorstehende Versuch enthält gleichzeitig die Erklärung für die in den Versuchen der Tabellen 1—3 gewählten Milchzuckerkonzentrationen. In den Versuchen a ist der Milchzucker ganz fortgelassen, um die volle Alkalibildung hervortreten zu lassen; zu den Versuchen c war ein sehr hoher, unter allen Umständen zur Milchsäurebildung führender Milchzuckergehalt genommen. In den Versuchen b war, auf Grund von hier nicht mitgeteilten Vorversuchen, eine Milchzuckerkonzentration gewählt, bei welcher die Milchsäurebildung nur auf Nährböden mittleren und geringen N-Gehaltes zur Geltung kommt, während sie auf N-reichen Nährböden von der gleichzeitigen Alkalibildung verdeckt wird; die Konzentration b von 0,3 Proz. Milchzucker ist also die geeignete, um zu Rückschlüssen auf den N-Gehalt des Nährbodens zu gelangen.

Das beobachtete Bild ist nach 46 Stunden ein etwas anderes als nach 22 Stunden; übereinstimmend ist die Tatsache, daß bei einem gleichen Milchzuckergehalt von 0,3 Proz. (Serien 1b, 2b, 3b) eine Rötung auf Hefewasseragar erst bei ungleich stärkeren Verdünnungen eintritt als bei Fleischwasseragar. So verhält sich Agar von unverdünntem Fleischsaft in der Rötung fast wie Hefewasser, das mit 3 Teilen destillierten Wassers verdünnt ist; mit der doppelten Wassermengen angesetztes Fleischwasser (1,5 kg Fleisch auf 4 l Wasser) entspricht einem Hefewasser, das mit mehr als 3 Teilen destillierten Wassers verdünnt ist. So zeigt gerade der Farbenumschlag ganz eindeutig, daß das verwendete Hefewasser, infolge seines höheren N-Gehaltes, einen besseren Nährboden abgibt als die übliche Fleischbouillon.

Durch weitere Steigerung der Konzentration des Hefewassers kann man es so weit bringen, daß mit derartigem Hefewasser hergestellte Nährböden einen besonderen Zusatz von Stoffen wie Pepton und Nutrose entbehrlich erscheinen lassen. Zu dem folgenden Versuch ist einerseits ein Hefewasser, das durch Einkochen auf dem Dampfbad zur doppelten Konzentration gebracht wurde, andererseits der bisher übliche Fleischwasser-Pepton-Nutrose-Agar verwendet.

Hefewasser ist also in der Tat ein zum mindesten vollwertiger Ersatz für Fleischbouillon. Erwähnt sei weiter, daß nicht nur die Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe, von denen bisher insgesamt 68 Stämme daraufhin geprüft wurden, sondern auch Cholera, Staphylokokken, Streptokokken u. a. ausgezeichnet auf Hefeagar wachsen, und daß auch die seit mehreren Monaten durchgeführte Verwendung von Hefewasseragar zu den laufenden Laboratoriumsuntersuchungen sich gut bewährt hat.

Die Ersparnisse durch die Verwendung von Hefeagar statt Fleischbouillon stellen sich für die hiesigen Verhältnisse folgendermaßen: Bei einem derzeitigen Preise von 3,60 M. für das Kilo Pferdefleisch kostet das Liter Fleischbouillon (1,5 kg Fleisch + 2 l Wasser) etwa **2,70 M.** 10 l Breihefe andererseits geben bei der oben beschriebenen Herstellungsweise mindestens 12 l Hefebouillon, was bei einem gesetzlichen Höchstpreise von 3,50 M. für das Hektoliter Breihefe einem Preise von weniger als 3 Pfennigen für das Liter Hefebouillon gleichkommt.

Bei der Bereitung der Hefebouillon muß nun noch auf folgendes

Tabelle 4.

Versuch mit Hefewasseragar und Fleischwasser-Pepton-Nutrose-Agar.

Nährbodenbereitung:

I. 1000 g Hefewasser doppelter Konzentration
30 g Agar } schwach lackmusalkalisch
5 g NaCl

II. 1000 g Fleischwasser
10 g Pepton
10 g Nutrose } schwach lackmusalkalisch
30 g Agar
5 g NaCl

Zu je 80 ccm dieser Nährböden 20 ccm Lackmuslösung ohne bzw. mit Milchzucker.

No.	N-haltige Nährstoffe	Milchzucker Proz.	Wachstumsintensitäten nach 24 Stunden						
			B. coli 1	B. coli II	Typhus I	Typhus II	Paratyphus B	Ruhr Y	B. alcaligenes
Ia	Hefewasser doppelter Konzentration	0	4—5	4—5	4	(4)	4	4	(4)
Ib	dgl.	0,3	5 !	5 !	4	4	4	(4)	3—4
Ic	dgl.	5	4	(4)	(4)	(4)	4	4	3—4
IIa	Fleischwasser + 1 Proz. Pepton + 1 Proz. Nutrose	0	4 !	(4)	3—4	3 !	3—4	3 !	2—3
IIb	dgl.	0,3	5 !	5	3 !	3 !	(4)	3—4	(3)
IIc	dgl.	5	(4)	3—4	3—4	3 !	3—4	3—4	2—3

geachtet werden: Als Ausgangsmaterial dient, wie oben erwähnt, die sogenannte Breihefe der Brauereien. Diese gab stets gleichmäßig gute Resultate; sie ist auch ungleich billiger als andere Hefeerzeugnisse, wie Preßhefe, Dauerhefe, Nährhefe, deren Verwendung zur Herstellung von Bakteriennährböden außerdem aus ganz bestimmten Gründen nicht ohne weiteres statthaft oder möglich erscheint.

An einen für alle bakteriologischen Arbeiten, insbesondere auch für die Typhusdiagnose brauchbaren Nährboden muß die Forderung gestellt werden, daß dieser Nährboden Salze und N-haltige Verbindungen, vor allem Eiweißstoffe in geeigneter und ausreichender Menge enthält; dagegen ist es nicht erwünscht und unstatthaft, daß C-Verbindungen, wie Zuckerarten, mehrwertige Alkohole u. a. in diesem Nährboden von vornherein enthalten sind. Drigalski-Agar, der neben dem nachträglich zugefügten Milchzucker andere Zuckerarten enthält, ist für die Typhusdiagnose unbrauchbar, weil dann auch die Bakterien der Typhus-Ruhrgruppe rot wachsen würden. Der aus Breihefe hergestellte Hefewasseragar erfüllt nach den obigen Versuchsergebnissen die Bedingung des Fehlens störender C-Verbindungen, besser vielleicht sogar als der Fleischwasseragar, der meist, wenn auch nur geringe Zuckermengen enthält.

Mit den oben angeführten Hefepräparaten[1]) wurden umfangreiche Versuchsreihen durchgeführt. Preßhefebouillon wurde in der Weise hergestellt, daß 3 kg Preßhefe mit 6 l Wasser im Autoklaven extrahiert wurden; ein vorhergehendes Waschen der Preßhefe ist nicht möglich, da diese sich nicht wie Breihefe zu Boden setzt. Man muß daher filtrieren; die erhaltene Bouillon ist braun und nicht von dem angenehmen Geruch wie Bouillon aus Breihefe. Das Wachstum der Typhus-Coli-Keime auf Preßhefesaftagar ist ebenfalls gut; dagegen zeigt sich, daß ohne jeden weiteren Zuckerzusatz Säurebildung eintritt. Bei Lackmuslösung als Indikator wächst Bacterium coli blau, Typhus schwach rot, Paratyphus B deutlich rot, Ruhr Y und B. alcaligenes blau. Der Nährboden ist also für den Typhusnachweis ungeeignet.

Nährbouillon aus Dauerhefe, d. h. getrockneter Preßhefe, gab ein ähnliches Bild. Noch stärker war die störende Säurebildung bei Verwendung von Nährhefe, d. h. entbitterter, chemisch aufgeschlossener Hefe, die als Kraftfuttermittel und Ausgangsmaterial für Nährpräparate Bedeutung hat. 500 g der trockenen Nährhefe wurden mit 5 l Wasser gekocht; die nach dem Filtrieren erhaltene Flüssigkeit war tief dunkelbraun und schon deswegen für Nährbodenzwecke wenig geeignet. Bacterium coli, Paratyphus B, Ruhr Y und B. alcaligenes wuchsen gut, Typhus etwas schwächer. Der mit Lackmuslösung gefärbte Nährboden wurde ohne jeden Zuckerzusatz durch B. coli schwach, durch Typhus etwas stärker, durch Paratyphus B. sehr stark gerötet; Ruhr Y und B. alcaligenes wuchsen blau. Da Versuche mit Fleischwasserlackmusagar und schwachem bis mittlerem Glyzerinzusatz (0,5—1 Proz.) ein ähnliches Farbenbild ergaben, scheint der Schluß berechtigt, daß es sich hier um die Vergärung glyzerinartiger Stoffe handelt.

So sind nach diesen Erfahrungen Hefenährböden, die nicht mit Breihefe, sondern mit anderen Hefepräparaten hergestellt sind, für die allgemeine bakteriologische Technik unbrauchbar; die Verwendung der Breihefe (untergärige Bierhefe) ist das Entscheidende, um zu guten Ergebnissen zu gelangen.

Die Vernachlässigung dieser letzten Punkte ist vielleicht der Grund dafür, daß Hefenährböden bisher nicht die ihnen unzweifelhaft zukommende Verbreitung gefunden haben; denn Hefenährböden sind an sich nichts Neues in der Bakteriologie. So benutzte bereits M. W. Beijerink[2]) eine Hefewasserglukosegelatine, die aus Preßhefe dargestellt war. Für gärungstechnische Betriebe empfiehlt, wie Lindner[3]) berichtet, Schönfeld einen Hefenährboden der folgenden Zusammensetzung:

---

[1]) Die verwendeten Hefepräparate waren von der Firma Andersen, Nissen & Co. in Altona bezogen.

[2]) Beijerink, Verfahren zum Nachweis der Säureabsonderung bei Mikrobien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1890. S. 781.)

[3]) Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 5. Aufl. Berlin 1909. S. 206, 216, 545.

„Hefeabkochungen bereitet man sich in der Weise, daß man 50—100 g gepreßte Hefe in 1 l Wasser . . . . längere Zeit aufkocht und zum Schluß durch ein Faltenfilter filtriert.“ Außerdem wird Trockenhefeextrakt empfohlen. „Letztere hält er (Schönfeld) für das allerbeste Nährmittel für die Züchtung von Pediokokken. Zur Herstellung werden 5 g getrocknete Hefe in 100 g Wasser digeriert.“ Aus jüngster Zeit sind die Angaben von Fischer, Bitter und Wagner[1]) zu erwähnen, die einen Hefeagar aus Nährhefe vorschlagen; außer Nährhefe wird auch Preßhefe verwendet, dagegen erscheint Bierhefe „wegen der in ihr enthaltenen Bitterstoffe nicht empfehlenswert“.

So zeigen diese Literaturangaben, daß gerade diejenigen Hefepräparate, die zur Erzielung eines dem Fleischwasser gleichwertigen Produktes ungeeignet sind, wie Preßhefe, Dauerhefe und Nährhefe, zur Herstellung herangezogen werden, während vor der Verwendung der Breihefe zum Teil sogar ausdrücklich gewarnt wird. Der einzige Autor, welcher außer dem Verf. der Verwendung der untergärigen Bierhefe das Wort redet, ist Guggenheimer[2]). Was die vorstehenden Ausführungen von der kurzen unlängst erschienenen Mitteilung Guggenheimers unterscheidet, sind einmal gewisse Unterschiede in der Bereitung der Hefebouillon, weiter aber vor allem der neben einer eingehenden Bewertung des aus Breihefe gewonnenen Nährbodens im obigen erbrachte Nachweis, daß die aus den verschiedenen Hefepräparaten gewonnenen Produkte für die Zwecke der bakteriologischen Technik einen sehr verschiedenen Wert besitzen, und daß nur die aus Breihefe (untergäriger Bierhefe) hergestellte Nährbouillon einen geeigneten Ersatz für die teuere Fleischbouillon zu bieten vermag.

---

[1]) Fischer, B., Bitter, L., u. Wagner, C., Vereinfachung und Verbilligung der Herstellung von Choleraimpfstoff. (München. med. Wochenschr. 1915. S. 770.)

[2]) Guggenheimer, R., Hefewasserpeptonagar als Ersatz für Fleischwasserpeptonagar. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1916. S. 363.)

Nachdruck verboten.

Ein einfacher Reagenzröhrchenverschluss ohne Wattestopfen[1]).

Von Prof. Dr. **Theodor Kasparek.**

Mit 1 Figur im Text.

Seit einigen Wochen werden in meinem Institut von mir für Bakterienkulturen zusammengestellte Reagenzröhrchen mit einem sehr einfachen Verschlusse, der sich als besonders praktisch bewährt hat, verwendet.

Da sie außerdem in jedem bakteriologischen Laboratorium sehr leicht und kostenlos hergestellt werden können, halte ich es für angezeigt, sie zu beschreiben: Am Rande eines Reagenzröhrchens (am besten mit glattem, nicht verdicktem Halse) von beliebiger Größe wird eine ungefähr 2 mm breite und 2 mm tiefe Einkerbung in der Flamme eingedrückt oder ausgefeilt und auf dasselbe ein kürzeres, am besten 6 cm langes Röhrchen, dessen innerer Durchmesser um 2 mm weiter sein muß als der äußere Durchmesser des längeren, mit der Einkerbung versehenen Röhrchens, aufgesetzt. Abgesehen davon, daß durch diesen Verschluß der altehrwürdige Wattestopf, mit welchem in der jetzigen Zeit, infolge der Wattepreissteigerung gespart wird, überflüssig ist, läßt diese Vorrichtung ein einfaches und reines Arbeiten zu. Da das Glas ungeschliffen ist, und der Ueberfalldeckel zu jedem Reagenzröhrchen, von entsprechender Weite verwendet werden kann, gestaltet sich das Arbeiten mit diesem Kulturröhrchenverschluß ungemein billig. Für den für die Kulturen notwendigen Luftzutritt und Austritt des Dampfes beim Sterilisieren genügt vollkommen die Einkerbung im Halse des Kulturröhrchens. Die Länge des Ueberfallröhrchens wurde des-

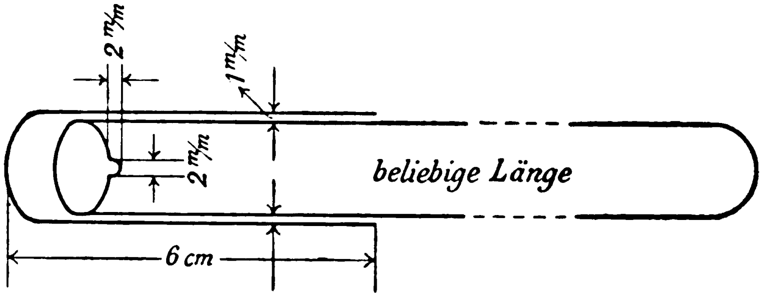


Fig. 1.

---

[1]) Vgl. auch diese Zeitschrift. Bd. 10. 1891. S. 657. (Red.).

halb von 6 cm gewählt, weil das Blasen kürzerer Glasröhren schwieriger und dadurch kostspieliger wird, desgleichen das Schneiden kürzerer Glasröhrchen unbequem ist. Reagenzröhrchen von 17 cm Länge und 16 mm Weite mit Verschlußröhrchen wurden mir von der Firma Franz Zahradnik, Prag-II, No. 2031, per Stück auf 12 Pf. (bzw. 18 Heller) berechnet.

Berichtigung

zu der im 2. Heft dieses Bandes erschienenen Arbeit: Ergebnisse der Untersuchung von 100 mit der K.H.-Reaktion zum Zwecke der Feststellung syphilitischer Infektionen geprüften Serumproben.

Von **W. Pfeiler.**

Auf S. 63 muß es bei Anmerkung 1, 3. Zeile statt am 1. Februar ds. Js. am 1. Februar vorigen Jahres heißen.

Auf S 70 ist im ersten dort beginnenden Absatz Zeile 11 statt „K.H.-Reaktion den Verdacht der Syphilis anzeigt“, zu lesen: „K.H.-Reaktion allein den Verdacht der Syphilis anzeigt“.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

Christiansen, M., Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe im Darm von gesunden Spankälbern und bei deren Darminfektionen. Vergleichende Untersuchungen, S. 196.

v. Eisler, M., Ein Beitrag zum Immunisierungsprozeß, mit Bezug auf die Zustandsphase und Menge des Antigens, S. 291.

Elkeles, G., Vergleichende Untersuchungen am Blute von Fleckfieberkranken, S. 260.

Gaßner, G., Ueber das Wachstum von Coli-Bakterien auf Lackmusmannitagar, S. 303.

Gaßner, G., Hefenährböden und ihre Bewertung, S. 308.

Kasparek, Theodor, Ein einfacher Reagenzröhrchenverschluß ohne Wattestopfen, S. 318.

Koritschoner, Robert, Eine Verbesserung des Galleanreicherungsverfahrens zum Bazillennachweise im Blute bei typhösen Erkrankungen, S. 193.

Penecke, Richard, Ueber eine Typhusepidemie bei Typhusschutzgeimpften, hervorgerufen durch Bacterium typhi mutabile, S. 249.

Pfeiler, W., Berichtigung zu der im 2. Heft dieses Bandes erschienenen Arbeit: Ergebnisse der Untersuchung von 100 mit der K.H.-Reaktion zum Zwecke der Feststellung syphilitischer Infektionen geprüften Serumproben, S. 319.

Piorkowski, Zur Differenzierung der Bakterien der Coli-Typhusgruppe mittels gefärbter Nährböden und der Harngelatine, S. 257.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 79. Heft 6.

Ausgegeben am 28. Juni 1917.

Nachdruck verboten.

Die Begeisselung als differential-diagnostisches Merkmal in der Fluorescens-Gruppe.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg (Vorstand: Geheimrat Prof. Dr. K. B. Lehmann) und dem Pathologisch-anatomischen Institut der Universität Basel (Vorstand: Prof. Dr. E. Hedinger), bakteriologische Abteilung (Vorstand: Priv.-Doz. Dr. J. L. Burckhardt).]

Von Dr. **J. L. Burckhardt,** Privatdozenten (Basel).

In mehreren Arbeiten der letzten Jahre über Variabilität wird die Frage untersucht, ob die Bakterien der Fluorescens-Gruppe, B. pyocyaneum, fluorescens (resp. fluorescens liquefaciens) und putidum (resp. fluorescens non liquefaciens) etc. voneinander zu unterscheiden seien, oder ob sie nur verschiedene und wechselnde Varietäten derselben Art vorstellten. Lehmann und Neumann neigten seit langem der letzteren Ansicht zu. Heller und Lepère (1913) schreiben im Artikel „Bacillus pyocyaneus" des Handbuchs von Kolle-Wassermann: „Im allgemeinen sieht wohl die Mehrzahl der Autoren heute im Bac. pyocyaneus einen virulent gewordenen Fluorescens." Stettenheimer (1913) nimmt auf Grund sorgfältiger Bobachtungen über den Wechsel der Farbbildung und anderer Eigenschaften an, daß B. pyocyaneum und fluorescens wohl kaum zu trennen seien. Přibram und Pulay kommen durch ihre Agglutinationsversuche zum gegenteiligen Schlusse, daß die Arten der Fluorescens-Gruppe untereinander nicht identisch seien, und daß B. fluorescens und putidum die Extreme bilden, während andere Arten dazwischen liegen; über B. pyocyaneum sprechen sie sich nicht deutlich aus. Hingegen zeigt Trommsdorff in einer Arbeit, welche bedeutend klarere Resultate gibt, daß schon innerhalb der Pyocyaneus-, sowie der Fluorescens- und Putidum-Stämme verschiedene serologisch abzutrennende Gruppen existieren, besonders aber, daß unter den 3 größeren Gruppen durch Agglutination keine Verwandtschaft nachzuweisen sei.

Die Untersuchungen veranlassen mich, aus einer größeren, noch nicht ganz abgeschlossenen Arbeit[1]) über die Begeißelung und ihre Verwendbarkeit für die Systematik einige hierher gehörende Mitteilungen zu machen, welche die Frage der Einheit und Vielheit in der Fluorescens-Gruppe wohl auf eine ganz neue Basis stellen, indem sie zeigen, daß schon rein morphologisch Verschiedenheiten zwischen B. pyocyaneum, fluorescens, putidum etc. bestehen, die in diesen Arbeiten über Variabilität nicht beachtet wurden.

Technische Vorbemerkungen: Voraussetzung für eine solche Untersuchung, welche die Zahl der Geißeln berücksichtigt, ist große Uebung in der Anfertigung von Geißelpräparaten, d. h. im Ausstreichen der Bakterien. Präparate, in denen die einzelnen Bakterien oder deren Geißeln sich berühren, oder in denen sich viele abgerissene Geißeln befinden, sind wertlos. Um das Zusammenhängen der Stäbchen durch Schleimbildung, welche gerade bei einigen hier berücksichtigten Stämmen ziemlich stark stört, zu vermeiden, darf nur mit ganz jungen, wenige Stunden alten Agarkulturen gearbeitet werden. (Ausführliches in der zitierten Arbeit.)

---

[1]) Der erste Teil „Ueber die Veränderlichkeit der Bewegung und Begeißelung" erschien 1914 im Archiv für Hygiene, der zweite soll am selben Orte erscheinen.

Eigene Untersuchungen:

B. pyocyaneum: Untersucht wurden im ganzen 9 Stämme, zunächst 3 alte Stämme der Würzburger und einer der Basler Sammlung, von denen zur Zeit der Untersuchung nur einer (Stamm Königsberg) Pyocyanin bildete, dann 5 in Basel aus Stuhl, Urin und Sektionsmaterial isolierte Stämme. Diese letzteren bildeten anfangs alle gut Pyocyanin (Chloroformauszug geprüft), jetzt zur Zeit der Geißeluntersuchung (1916) hat einer (No. 736/1913) die Pyocyaninbildung ganz verloren.

Von diesen 9 Stämmen besitzen 8 regelmäßig nur 1 Geißel (wie bei Vibrio cholerae sieht man unter Hunderten von Stäbchen auch einmal 2, doch handelt es sich am ehesten um das Anhängen einer abgerissenen Geißel). Der eine alte Sammlungsstamm (B. pyocycyaneum „Heidelberg“, 1896, von Prof. Ernst erhalten) weicht nun davon ab, indem er zwar auch meist 1, oft aber 2—3 und sogar selten bis 4 Geißeln zeigt. Einen eingeißeligen, pyocyaninbildenden Stamm habe ich in der allerdings kleinen Zahl nicht angetroffen. Ueber diesen Stamm wird unten noch zu sprechen sein. Auffallend ist, daß er allein von allen 9 alten und neuen Stämmen den charakteristischen „lindenblütenartigen“ Geruch vermissen läßt, und so dürfte man ihn wohl eher als B. fluorescens ansehen.

B. fluorescens (Flügge, Lehmann und Neumann):

Ich untersuchte im ganzen 9 Stämme, zunächst 3 der Würzburger Sammlung (Stamm Král, Curchod, B. fluorescens thermo), 1 Stamm der Basler Sammlung unbekannter Herkunft und 6 aus Wasser, Erde, Stühlen und der Luft frisch gezüchtete fluoreszierende und Gelatine verflüssigende Stämme. Alle 9 Stämme zeigten mehrere Geißeln, meist 2—4, dazwischen 5—6. Ein Stamm zeigte allerdings in der Mehrzahl auch 1—4, oft aber 6, selten anscheinend 8 Geißeln. Einzelne Individuen mit nur 1 Geißel sind zwar in allen Präparaten vorhanden, meist aber ziemlich selten.

B. putidum (fluorescens non liquefaciens): Untersucht wurden 4 Stämme der Würzburger Sammlung, Stamm Appel, Stamm putidum „erythrosporum“ (Bacillus erythrosporus), Stamm putidum spirillum (als Spirillum fluorescens erhalten) und ein Stamm, den ich in Würzburg aus verunreinigtem Serum isolierte. Alle Stämme zeigten meist 6—8—12, an einzelnen Individuen natürlich auch weniger, Geißeln, Stamm Spirillum meist 8—12, also ganze dichte Büschel.

B. syncyaneum: Untersucht wurden 3 Stämme der Würzburger Sammlung, Stamm syncyaneum, syncyaneum β und syncyaneum γ. Zwei derselben zeigten meist 5—6, einer meist 1—4 Geißeln.

B. faecale alcaligenes: Mir standen nur 2 Stämme zur Verfügung, 1 Stamm der Würzburger und 1 Stamm der Basler Sammlung. Ich fand an beiden meist 2—4, selten 6 oder nur 1 polare Geißel.

B. punctatum: Untersucht wurde 1 Stamm der Würzburger Sammlung (von Prof. Zimmermann, Chemnitz). Er zeigte nur 1 polare Geißel.

Epikrise: Die Zahl der von jeder Art untersuchten Stämme wird noch zu vergrößern sein, hauptsächlich werden die wenig oder keine Farbe bildenden, polarbegeißelten Wasserbakterien, von denen ich zurzeit nur einen einwandsfreien diagnostizierten Punctatus-Stamm besitze, noch in den Bereich der Untersuchung zu ziehen sein, doch scheint mir schon aus den oben gefundenen Tatsachen deutlich hervorzugehen, daß von bloßen „Varietäten“ nicht die Rede sein kann. Wenn von 9 Pyocyaneus-Stämmen 8 nur 1 Geißel besitzen und der 9. in mehreren Eigenschaften (der Farbstoffbildung und dem charakteristischen lindenblütenartigen Geruch) fraglich ist, während beim Fluorescens 9 Stämme mehrere (2—6) und beim B. putidum 4 Stämme viele (6—12) Geißeln haben, so kann das kein Zufall sein. Die Stellung des B. syncyaneum, faecale und punctatum ist durch diese Untersuchung von wenigen Stämmen noch nicht festgelegt. Beim B. faecale alcaligenes könnte es sich z. B.

immer noch um ein B. fluorescens handeln, das Farbbildung und Gelatineverflüssigung verloren hat, beim Punctatum um ein B. pyocyaneum, das keine Farbe mehr bildet. Das Wesentliche ist aber, daß auf diese Weise z. B. ein B. pyocyaneum, das durch vielfache Ueberimpfung die Pyocyaninbildung verloren hat, vom Fluorescens, oder ein B. fluorescens, das seine Gelatineverflüssigung verloren hat, von B. putidum zu unterscheiden ist. Wir haben es also allerdings mit Arten zu tun, die sich in ihren biologischen Merkmalen nicht immer unterscheiden, aber doch mit verschiedenen „Arten“.

Die eingeißelige Art, B. pyocyaneum, finden wir bei ihrer Isolierung meist pyocyaninbildend, die mehrgeißelige Art, B. fluorescens, nur fluoreszierend und gelatineverflüssigend, die vielgeißelige Art, B. putidum, fluoreszierend und nicht verflüssigend. Wie nun diese Eigenschaften in künstlichen Kulturen oft verloren gehen, läßt es sich annehmen, daß sie auch in der Natur veränderlich sind, und es ist sehr leicht möglich, daß man auch Arten mit 1 Geißel ohne Pyocyaninbildung, Arten mit wenigen Geißeln ohne Gelatineverflüssigung finden wird, die dann nach diesen biologischen Merkmalen bei ihrer Isolierung in der Regel natürlich anders getauft werden. Am grundlegenden Prinzip wird es also nichts ändern, wenn etwa noch Putidum-Stämme mit nur spärlichen Geißeln, oder ähnliche Abweichungen von den obigen Angaben, gefunden werden. Es wird dann eben zu untersuchen sein, ob es sich wirklich um einen Putidum-Stamm handelt, worüber nach den Angaben von Klimenko, Trommsdorff und anderen die Agglutination meist Aufschluß geben dürfte.

Es wird sich also z. B. beim B. pyocyaneum ähnlich verhalten wie bei Vibrio cholerae, bei dem allgemein angenommen wird, daß jeder echte V. cholerae eingeißelig sein muß, während natürlich nicht jeder eingeißelige Vibrio ein Choleraerreger ist.

In älteren Untersuchungen finde ich nur bei Klimenko eine klare, hierher gehörende Angabe. Dieser zeigt, daß das, was gewöhnlich als B. faecale alcaligenes bezeichnet wird, serologisch und kulturell in mindestens 2 oder mehrere Gruppen zerfällt. Bei der eigentlichen Gruppe des B. faecale alcaligenes fand er unter 15 Stämmen 14mal 2—4—6 Geißeln, einmal nur 1 Geißel. In der 2. Gruppe von 5 Bakterien, die gelbliches oder grünliches fluoreszierendes Pigment bildeten und sich auch sonst, z. B. durch Zuckervergärung und durch Agglutination, anders verhielten, fand er bei 4 fluoreszierenden Stämmen ganze Büschel von 9—10 Geißeln, beim 5. (mit gelbem Pigment) dieselbe Begeißelung wie bei B. faecale alcaligenes. Er rechnet diese 2. Gruppe zum Bacillus fluorescens non liquefaciens, also dem, was ich oben als B. putidum beschrieb, und seine Angaben über die reichliche Begeißelung dieser Gruppe stimmen mit den meinen überein, ebenso wie seine Befunde am B. faec. alcaligenes.

Früher hatte schon Migula beobachtet, daß die Zahl der Geißeln bei den polarbegeißelten Bakterien (seiner Gattung „Pseudomonas“) etwas verschieden sei, doch hält er die Unterschiede anscheinend nicht für konstant und eine Trennung danach „zunächst nicht für wünschenswert“. Peppler, der mehrere Arten studierte, fand beim B. pyocyaneum 1, selten 2, bei B. fluorescens liquefaciens 1, auch 2, seltener 3—4, bei B. cyanogenes 1 oder 2—4 polare Geißeln, also keine sehr typischen Unterschiede (er untersuchte relativ alte Kulturen, die wegen Verklebung der Bakterien keine eindeutigen Resultate geben können). Auf weitere ältere Angaben einzugehen, hat wohl keinen Zweck. Die meisten Lehrbücher begnügen sich damit, das B. pyocyaneum als eingeißelig und das B. fluorescens, putidum etc. als morphologisch absolut gleich zu beschreiben.

Daß das B. faecale alcaligenes noch meist zu der peritrich begeißelten Typhusgruppe gezählt wird, sei nur nebenbei erwähnt. Ebenso möchte ich hier nur kurz auf die Wichtigkeit der Begeißelung für die Systematik im allgemeinen hinweisen und schließlich meine Angaben zu den folgenden Sätzen zusammenfassen:

I. Ebenso wie bei den Vibrionen und Spirillen, lassen sich bei ihren nächsten Verwandten, den polarbegeißelten Stäbchen der „Fluorescens-Gruppe“ verschiedene Arten nach der Begeißelung unterscheiden.

II. Das B. pyocyaneum besitzt anscheinend immer nur 1 Geißel, das B. fluorescens (liquefaciens) meist 2—5, das B. putidum meist ein Büschel von 6—12 Geißeln.

III. Ein B. pyocyaneum, das seinen Farbstoff verloren hat, kann also morphologisch immer noch vom typischen B. fluorescens, ein B. fluorescens, das die Gelatineverflüssigung verloren hat, von B. putidum unterschieden werden.

Literatur.

Burckhardt, J. L., Arch. f. Hyg. Bd. 82. 1914. S. 235.
Heller u. Lepère, Kolle-Wassermann, Handb. der path. Mikroorganismen. 2. Aufl. 1913. Bd. 5.
Klimenko, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. S. 755.
Lehmann u. Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. Jena 1900.
Migula, System der Bakterien.
Peppler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. S. 345.
Přibram u. Pulay, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. S. 321.
Stettenheimer, Verhandl. d. Phys.-med. Gesellsch. Würzburg. N. F. Bd. 42. 1913. S. 141.
Trommsdorff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. S. 493.

Nachdruck verboten.

Die Vielgestaltigkeit des Bacterium coli.

Von Dr. **Heinrich Prell,**
z. Zt. Freiwilliger Krankenpfleger im Felde.

Praktische Aufgaben bei der Untersuchung der Darmflora veranlaßten mich vor einiger Zeit, der Frage nach der Vielgestaltigkeit der Bakterien näher zu treten. Dabei stellte sich ganz von selbst das Bestreben ein, die theoretische Bedeutung der verschiedenen Formen zu erfassen. Denn nur, wenn eine gewisse Gliederung in die Fülle der morphologischen und physiologischen Wandelbarkeit gebracht werden kann, ist es möglich, den Einfluß dieser Wandelbarkeit auf medizinisch-bakteriologische Spezialfragen zu erörtern.

Während beabsichtigt ist, auf diese praktischen Folgerungen bei späterer Gelegenheit zurückzukommen, seien zunächst nur diejenigen Ergebnisse zusammengestellt, welche die theoretische Seite des Problems der Vielgestaltigkeit bei Bakterien betreffen.

Den äußeren Verhältnissen entsprechend, war es unbedingt geboten, den Kreis der zur Untersuchung gelangenden Bakterienarten so eng wie nur irgend möglich zu ziehen, da zur Durchführung umfassender Versuche es in gleicher Weise an Zeit, wie Gelegenheit gebrach. Aus diesem Grunde kamen nur die in der hiesigen Praxis wichtigsten Bakterien überhaupt in Betracht. Von diesen wurde eine größere Anzahl von Stämmen geprüft, und nach den einleitenden Vorversuchen wurden dann diejenigen ausgewählt, welche als Unterlage für die weiteren Untersuchungen dienen sollten.

Als die geeignetsten Objekte erwiesen sich dabei einige Stämme des B. coli, an denen sich das Wesentliche der Wandlungen gut beobachten ließ. Auf diesen Coli-Stämmen basiert daher auch in der Hauptsache das, was an allgemeinen Resultaten gewonnen wurde. Wenn aber an dieser Stelle die Coli-Stämme vorwiegend besprochen werden, so soll daraus keineswegs der Schluß gezogen werden, daß nur bei ihnen die erwähnten Wandlungen vorkommen. Die überwiegende Mehrzahl der Einzelerscheinungen ließ sich in analoger Weise auch bei anderen Bakterienarten beobachten, doch soll auf diese nur da, wo es unbedingt erforderlich scheint, hingewiesen werden. Ein Blick auf die Literatur[1]) lehrt, daß es sich dabei um Erscheinungen handelt, die von einer großen Zahl von Autoren bei den verschiedensten Bakterien bereits beobachtet und eingehend durchgearbeitet sind. Der Zweck der vorliegenden Studie ist also weniger, neue Tatsachen zu bringen, als vielmehr altbekannte Tatsachen in systematischer Weise zu ordnen und zu klären.

Methodik.

Zunächst handelte es sich darum, von sicher reinen Bakterienstämmen (Klonen) verschiedene Erscheinungsformen zu gewinnen. Zu dem Zwecke wurde vor allem das Baerthleinsche Verfahren der Dauerbebrütung von Bouillonkulturen angewandt, daneben gelangte aber auch die Dauerbebrütung von Plattenkulturen oder deren Daueraufbewahrung bei Zimmertemperatur, sowie die Zucht auf Eiweißnährböden zur Benutzung.

Die in Aussicht genommenen Stämme, für deren erste allgemeine Auswahl vorwiegend klinische Gesichtspunkte oder auffälliges Wachstum auf den Originalplatten von Stuhl-Massenuntersuchungen maßgebend waren, wurden zuerst wiederholt über die Platte geschickt, um sich von ihrer Reinheit zu vergewissern.

Hierauf wurden sie auf Röhrchen mit gewöhnlicher Fleischextrakt-Nährbouillon ohne Zuckerzusatz überimpft. Diese Röhrchen blieben nach Baerthleins Vorschrift mindestens 8 Tage im Brutofen bei 37° C. Sodann wurden von Zeit zu Zeit geringe Mengen des Materials auf Platten ausgestrichen. Als Nährboden diente dabei fast ausschließ-

---

1) Wenn ich die in den letzten Jahren geradezu ins Unermeßliche angeschwollene Literatur über „Mutation“ bei Bakterien nicht in dem Maße habe berücksichtigen können, wie das nach der Natur der zu behandelnden Fragen wünschenswert gewesen wäre, so erklärt sich das aus der technischen Schwierigkeit der Bücherbeschaffung. Aus diesem Grunde habe ich auch von genaueren Hinweisen auf die Literatur grundsätzlich Abstand genommen.

lich der Endosche Fuchsin-Milchzuckeragar, da dieser durch seine Reaktion auf die Milchzuckervergärung gerade für die zur Untersuchung stehenden Bakterien eine größere Rolle spielt, und die Untersuchungsergebnisse möglichst direkt auch für die Praxis verwendbar sein sollten. Die Platten wurden für etwa 24 Stunden im Brutofen bei 37° C gehalten und dann untersucht. Platten, welche zur Dauerbeobachtung auf Abspaltung neuer Formen dienen sollten, wurden gewöhnlich bei Zimmertemperatur, seltener im Brutofen gehalten und in regelmäßigen Abständen kontrolliert.

Als Eiweißnährboden diente Loefflersches Traubenzuckerbouillon-Rinderblutserum. Die zur Untersuchung bestimmte Kolonie wurde auf Serumröhrchen übertragen und nach etwa 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank in der üblichen Weise auf Platten ausgestrichen.

Arten der Vielgestaltigkeit.

Als Ursache für eine Vielgestaltigkeit kommen, soweit es sich bislang überblicken läßt, fünf verschiedene Arten von Umbildung in Frage:

1) Die Metamorphose oder die gesetzmäßige Umwandlung der Person.

2) Die Cyclomorphose oder die gesetzmäßige Umwandlung des Stammes.

3) Die Pleomorphose oder die Umwandlung durch Aktivierung oder Inaktivierung von Erbfaktoren.

4) Die Allomorphose oder die Umwandlung durch Neukombination von Erbfaktoren.

5) Die Neomorphose oder die Umwandlung durch Veränderung der Erbfaktoren.

Von diesen 5 verschiedenen Typen kommt die Allomorphose (Kombination nach Baur) nur für geschlechtlich sich fortpflanzende Organismen in Frage. Im folgenden sollen ausschließlich die vier anderen Typen behandelt werden.

Metamorphose.

Es erübrigt sich, ausdrücklich darauf hinzuweisen, daß selbstverständlich in allen Kulturen, welche untersucht wurden, reichlich individuelle Differenzen zu beobachten waren, die ohne weiteres auf Altersunterschiede zurückzuführen waren; insbesondere bezieht sich das auf Verschiedenheiten der Stäbchenlänge.

Daß auch die Kolonien als Ganzes während ihres Heranwachsens die Gestalt verändern, liegt ebenso auf der Hand. Wichtig ist diese Gestaltveränderung nur deshalb, weil nur gleich alte Kolonien, die möglichst isoliert gewachsen waren, direkt miteinander verglichen werden können. Bei der Unterscheidung verschiedener Typen muß daher besonders darauf geachtet werden, ob es sich um freistehende Kolonien handelt und ob der Nährboden in etwa gleicher Dicke ihnen zur Verfügung steht, da die gedrängter wachsenden unter dem Drucke ihrer Nachbarn, die auf zu dünnem Nährboden wachsenden wegen Mangels an Nährstoffen nicht zur vollen Entfaltung kommen und deshalb weniger differenziert erscheinen.

Pleomorphose.

Unter dem Begriffe der Pleomorphose möchte ich das Auftreten von solchen Wandlungen eines Bakterienstammes zusammenfassen, bei

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

welchen keine Aenderung seiner Vererbungsqualitäten stattfindet. Pleomorphose ist also Artumwandlung ohne Aenderung des Artcharakters.

Die äußeren Merkmale eines Organismus, die als Ganzes seine Erscheinungsform, seinen Phänotypus, bilden, sind das Reaktionsprodukt eines Komplexes von Anlagen oder Genen, deren Gesamtheit den Charakter der Art, ihren Genotypus, bilden. Die einzelnen Erbanlagen treten nicht bei jeder Entwickelung in gleicher Weise in Tätigkeit, sondern unter verschiedenen Bedingungen überwiegen bald die einen, bald die anderen, kenntlich daran, daß, je nach den herrschenden Bedingungen, der Phänotypus ein verschiedenes Aussehen besitzt. Die gegebenen Bedingungen können einen Erbfaktor aktivieren, und dann wird das in ihm begründete Merkmal manifest, oder sie können ihn inaktivieren, dann bleibt das Merkmal latent. Es ist also nicht möglich, aus dem Vorhandensein oder Fehlen des Merkmales stets direkt Schlüsse auf das Vorhandensein oder Fehlen des Erbfaktors zu ziehen. Die Bedingungen für das Aktivieren oder Inaktivieren eines Erbfaktors sind im Organismus selbst oder in seiner Umgebung zu suchen. Innere Bedingungen, wie sie in zufälligen physiologischen Zuständen der Zellen vorhanden sind, haben gewöhnlich nur geringen Einfluß auf die Gestalt des Organismus; durch sie bedingte Aenderungen des Phänotypus sollen hier als Fluktuationen bezeichnet werden. Aeußere Bedingungen, wie sie etwa das Experiment mit sich bringt, haben oft starken Einfluß auf die Gestaltung des Organismus; die durch sie veranlaßten Aenderungen des Phänotypus seien als Modifikationen bezeichnet. Durch ihre Wirkung beeinflussen die äußeren Bedingungen auch die inneren und können durch eine nachhaltige Veränderung derselben ihre Reaktion dem Organismus mehr oder weniger fest induzieren. Solche fest induzierte Modifikationen, deren Rückgängigmachung im Experiment nicht gelingt, seien im folgenden als Transformationen bezeichnet. Eine scharfe Abgrenzung der 3 Formen der Pleomorphose läßt sich kaum durchführen, da ihre Unterschiede in mancher Beziehung sich beim Einzelfalle verwischen.

Fluktuation.

Der individuellen Variabilität wurde kein besonderes Interesse entgegengebracht, da eine Möglichkeit, dieselbe durch sorgfältige Selektionsversuche auf ihren Charakter zu untersuchen, nicht vorlag. Die Unterschiede zwischen den Individuen, welche einer einzigen Kolonie entstammten, waren oft erstaunlich groß. So traten bei einem Typhusstamme nebeneinander dünne und dicke Stäbchen auf, von denen die ersteren etwa 0,8 μ, die letzteren bis gegen 3 μ Durchmesser besaßen (gemessen im flammenfixierten, mit Karbolfuchsin gefärbten Präparate). Da die beiden Typen nebeneinander in allen Kolonien der verschiedensten Größen auftraten, erweckte es den Anschein, als ob sie auf den Charakter der Kolonie keinerlei Einfluß hätten; es gelang auch nicht, von ihnen Reinkulturen herzustellen.

Eine etwas größere Rolle spielte die Frage nach der Variabilität der Kolonieform. Abgesehen davon, daß bei den unregelmäßig skulpierten Formen die Skulptur der einzelnen Kolonien nicht stets vollkommen gleich ist, traten auch unter sonst relativ gleichartig gebauten Kolonien gelegentlich abweichende auf. Diese wurden wiederholt abgestochen und ihre Weiterzucht versucht. In den meisten Fällen versagte diese vollkommen; die Abkömmlinge der etwas aberrierenden Kolonien kehrten vollständig zu dem Typus zurück, den die Mehrzahl der Kolonien auf der Ausgangsplatte bereits besessen hatte. Es liegt also nahe, hier geringe Unregelmäßigkeiten des Nährbodens oder unbekannte andere Einflüsse verantwortlich zu machen. Welcher Natur diese Einflüsse sein können, war nicht zu ermitteln.

Nur in einem Falle glaube ich, noch auf eine besondere Ursache gestoßen zu sein. Eine von einem Originalausstriche abgestochene Coli-Kolonie wuchs auf der Endo-Platte in 2 Formen. Die eine Form war scheibenförmig, glatt und glänzend, und daneben trat eine andere auf, die ihr im gesamten Habitus glich, nur war ihre Oberfläche grob gefaltet. Bei der Weiterimpfung erwies sich die glatte Form als konstant, die gefaltete spaltete wieder glatte Kolonien ab, und zwar jetzt in viel höherem Maße als bei der vorangegangenen Platte. Eine 3. Weiterimpfung der gefalteten Form gelang nicht, da jetzt nur noch glatte Kolonien wuchsen. Zufällig waren von der ersten Platte mikroskopische Präparate beider Kolonietypen angelegt worden. Bei der Durchmusterung ließen sich Unterschiede zwischen beiden nur insofern feststellen, als in dem Präparat von der glatten Kolonie die Individuen vorwiegend isoliert lagen, während die Individuen in der gewellten oft zu langen Fäden vereint waren. Ich möchte es nicht für ausgeschlossen halten, daß diese individuelle Verschiedenheit des primären Wachstumes auch Einfluß auf den Bau der Kolonie im vorliegenden Falle gehabt hat. Einen analogen Fall vom Verschwinden einer gewellten Form hatte ich schon bei früherer Gelegenheit an einem Paratyphus B-Stamm beobachtet, der nach viermal wiederholter Weiterimpfung bei eintägigem Abstande sein unregelmäßiges Wachstum verlor und ebenfalls in eine glatte Form überging; leider liegt von diesem Fall keine mikroskopische Untersuchung vor.

Modifikation.

Als Modifikationen sollen diejenigen Veränderungen eines Bakterien-Klones zusammengefaßt sein, welche durch besondere Zuchtbedingungen bei ihm ausgelöst werden, und welche beim Aufhören dieser Bedingungen wieder erlöschen. Einen Spezialfall der Modifikation stellt die Adaptation dar, bei welcher eine ausgesprochene Anpassung an das Milieu deutlich ersichtlich ist. Das Erlöschen der Modifikation tritt sofort nach Wegfall der auslösenden Bedingungen oder erst unter besonderen neuen Bedingungen ein. Unter gewissen indifferenten Verhältnissen kann die Veränderung noch mehr oder weniger lange beibehalten werden und bietet so als Dauermodifikation einen Uebergang zur Transformation.

Die adaptative Modifikation bei B. coli läßt sich am leichtesten an solchen Stämmen beobachten, welche anfänglich auf Endo-Agar farblos wachsen. Das Verhalten verschiedener derartiger Stämme, welche zur Untersuchung kamen, sei hier in einer Reihenfolge zusammengestellt, die vielleicht ein Abbild der graduellen Verschiedenheit solcher Modifikationen zu geben geeignet ist.

Als Ausgangsobjekt diene ein Stamm, der auf Endo-Agar zunächst in zarten, hellen, außerordentlich dem Paratyphus B ähnlichen Kolonien wuchs. Erst am dritten Tage röteten sich die Kolonien, mit einem roten Kerne beginnend, allmählich mehr und mehr. Nach mehr als zweitägigem Aufenthalte begann sich also dieses Bakter an den spezifischen

Zucker des Nährbodens zu gewöhnen und ihn anzugreifen. Genau so verhielt sich der Stamm auch bei Ueberimpfung auf Barsiekow-Milchzuckerlösung; während der ersten beiden Tage ließ er dieselbe unverändert, und erst am dritten Tage trat Rötung und bald darauf Ausfällung der Nutrose ein. Bei der Weiterimpfung von der Endo-Platte war es gleichgültig, ob man von hellen oder bereits geröteten Kolonien ausging; stets wuchsen die jungen Kolonien zuerst hell und röteten sich erst später. Der Stamm paßt sich demnach in seinem Verhalten allmählich den gegebenen Verhältnissen an, indem er nach einiger Zeit auch den ihm anfänglich nicht zusagenden Milchzucker angreift. Eine dauernde Veränderung des Stammes erfolgt dabei aber nicht, vielmehr muß bei jeder Weiterimpfung die Anpassung von neuem erfolgen. Im Grunde kann man daher im Zweifel sein, ob es sich hier wirklich um eine Modifikation des Stammes handelt, oder nur um eine im Alter der Kolonien begründete Veränderung ihres biologischen Verhaltens, also um einen eher der Metamorphose zuzurechnenden Vorgang.

Ein anderer der untersuchten Stämme war auf der Original-Stuhlausstrichplatte erst hell gewachsen und war dann bei längerem Stehen rot geworden. Bei dauernder Zucht auf Endo-Agar wuchs er stets rot, so daß dem anfänglich abweichenden Verhalten nicht Rechnung getragen wurde. Nachdem der Stamm vorübergehend auf Serum verimpft und dann wieder auf Endo-Agar ausgestrichen worden war, wuchs er in hellen Kolonien, die erst nach etwa 24 Stunden begannen, rote Kerne zu entwickeln. Impfte man vom Rande dieser Kolonien ab, so entstanden Tochterkolonien, die ebenfalls anfangs hell wuchsen und erst nach längerer Zeit rotkernig wurden. Nahm man aber Material von dem roten Koloniekerne, so entstanden Tochterkolonien, die viel früher einen roten Kern bildeten und so wieder zur Ausgangsform für die Serumbehandlung zurückkehrten, einer Form, die im wesentlichen rot wuchs und nur einen feinen hellen Saum um die Kolonien aufwies. Dieser Stamm zeigte also auch eine Beeinflussung durch den Nährboden. Der „Darm“-Typus, wie der „Serum“-Typus, wuchsen zunächst hell; es ist eine unbewiesene, aber sehr wahrscheinliche Annahme, daß beide Typen identisch miteinander sind: die auf Eiweißzersetzung eingestellte Form. Durch den Aufenthalt auf dem milchzuckerhaltigen Nährboden wurde eine Anpassung an die Milchzuckerspaltung veranlaßt. Die Anpassung erfolgte zwar allmählich und vererbte sich nicht vollständig; aber doch zeigte die Deszendenz eine größere Geneigtheit zum Angreifen des Milchzuckers. Auf der anderen Seite ging die Anpassung sofort verloren, wenn der Stamm auf Serum übertragen wurde. Auf Schrägagar dagegen blieb sie, zunächst wenigstens, erhalten. Es liegt somit in diesem Falle eine Modifikation des physiologischen Verhaltens durch den Nährboden vor.

Sodann gelangte noch ein B. coli-Stamm zur Beobachtung, welcher in seinem Verhalten sich dem vielbeschriebenen B. coli mutabile Neiss. näherte. Auch dieser Coli wuchs anfänglich auf Endo-Nährboden in hellen, den gewöhnlichen Typhuskolonien sehr ähnlichen Kolonien. Ließ man nun die Platten etwa zwei Tage und länger im Brutschrank stehen, so entwickelten sich auf den Kolonien helle, knötchenartige Erhebungen mit intensiv rotem Kerne. Diese Knötchen waren keineswegs zentrisch gelegen, sondern traten an beliebigen Stellen, oft sogar ganz nahe an der Peripherie der Kolonien auf. Wurden nun diese roten Knötchen abgeimpft, so ergab ihre Deszendenz zunächst ausschließlich wieder helle Kolonien. Von diesen wuchs ein Teil hell weiter, bildete später Knötchen aus und erwies sich so als identisch mit dem Ausgangsmaterial. Ein Teil erhielt etwa gleichzeitig mit der Knötchenbildung bei den anderen intensiv rote Kerne. Gegenüber den vorher beschriebenen zeigt dieser Stamm ein abweichendes Verhalten. Hier tritt nicht allmählich und, entsprechend dem Alter, in der Mitte beginnend eine Anpasssung an den Nährboden auf, sondern mit einem Schlage und an beliebiger Stelle ist sie plötzlich vorhanden. Das scheint auf einen prinzipiellen Gegensatz gegenüber den beiden anderen Fällen hinzuweisen, denn neben der Knötchenbildung tritt bei der Ausgangsform später auch die Bildung eines roten Kernes auf, genau wie beim erstgenannten Falle. Man könnte also annehmen, daß hier die Milchzuckervergärung in dem Knötchen sicher eine Neuerwerbung sei. Man kann dem aber entgegenhalten, daß jedes Individuum die Fähigkeit zur Gewinnung der neuen Fermentbildung besitzt, denn jedes beliebige ausgestrichene Bakter bildet seine Knötchen aus, wenn die von ihm abgeleitete Kolonie das nötige Alter erreicht hat. Das spricht dafür, daß es auch hier sich nicht um eine Neuerwerbung handelt, sondern nur um eine Modifikation, die bei gewissen zufällig besonders disponierten Individuen zuerst auftritt.

Bei einem weiteren, auf Endo-Agar hell wachsenden Stamme trat die Bildung roter Knötchen nur bei vereinzelten Kolonien und erst nach 9-tägiger Bebrütung der Platte auf. Wurde mit einem solchen Knötchen eine Platte beimpft, so wuchsen zunächst ebenfalls alle Kolonien hell. Erst am zweiten Tage entwickelten einige Kolonien einen intensiv roten Kern, der sich allmählich ausdehnte und nur, wie beim zweiten Falle, einen feinen, hellen Saum übrigließ. Es ist anzunehmen, daß in diesem Fall die hellen Kolonien von zufällig beim Abimpfen mitgenommenen hellen Teilen des Knötchens abstammten, die dunklen aber von dem tiefroten Kerne. Die Deszendenz der roten Kolonien verhielt sich genau so, wie die zuerst aufgetretenen, wuchs also rot mit hellem Rande; die hellen Kolonien zeigten weitere Aufspaltung. Auch in diesem Falle darf man von einer Modifikation sprechen.

Eine letzte Art des Uebergangs von hellem Wachstum auf Endo-Agar zu rotem bietet schließlich das schon genannte B. coli mutabile Neisser, das von verschiedenen Autoren wieder beobachtet und beschrieben worden ist, mir aber bislang noch nicht vorlag. Hier bilden sich, ebenso wie bei den vorhergehenden Stämmen, rote Knötchen aus. Aber die Deszendenz dieser roten Knötchen ist gleich von Anfang an rot. Die einmal erworbene oder wiedererworbene Fähigkeit der Milchzuckervergärung fügt sich bei ihrem Auftreten gleich fest in den physiologischen Artcharakter ein. Allein betrachtet, würde man das vielleicht für eine echte Artumwandlung halten, für das Auftreten einer „Mutation“. Aber der Vergleich mit dem Verhalten der besprochenen anderen Stämmen gestattet die Ableitung des Vorganges als eine Anpassung. Auch hier, beim Neisserschen Coli mutabile-Stamm, liegt also adaptative Modifikation vor. Dafür spricht vor allem, daß auch diese Anpassung, trotz ihrer erblichen Konstanz unter gewöhnlichen Verhältnissen, nicht absolut erblich festgelegt ist. Beim längeren Aufenthalt auf dem gleichen Substrate oder auf geeigneten Nährböden wurden schon von Neisser und Massini, und nach ihnen besonders von Baerthlein Rückschläge auf die Ausgangsform festgestellt. Baerthlein selbst erblickte in diesen Rückschlägen wiederum eine Mutation, die er der zuerst beobachteten „primären“ als „sekundäre“ gegenüberstellt. Dieser Anschauung wird man nicht beipflichten können, weil eine Reversibilität von Neomorphosen nicht zu erwarten ist (Dolloſches Prinzip). Man muß in dieser Rückwandelbarkeit vielmehr eine Bestätigung dafür erblicken, daß eine, allerdings sehr gefestigte, Modifikation vorlag.

Bei dieser Gelegenheit seien noch einige allgemeine Worte über die Knötchenbildung eingefügt. Was zunächst überhaupt die Bildung von Erhebungen anlangt, an Stelle dessen, daß bloß ein roter Fleck auftritt, so erklärt sich das einfach. Gegenüber ihrer Umgebung ist die Ausgangszelle des Knötchens oder der Ausgangskomplex durch die Fähigkeit der Milchzuckervergärung außerordentlich im Vorteile. Und da diese Zellen einen neuen Nährstoff ausnutzen können, bietet sich ihnen die Möglichkeit zu bedeutend rascherem Wachstum. Die Folge davon ist, da seitlich schon eine geschlossene Bakterienmenge liegt, daß die neue Deszendenz sich nach oben ausdehnen muß, äußerlich sichtbar als knopfartige Vorwölbung der Kolonieoberfläche. Ich glaube daher, jede Knopfbildung als Zeichen vom Auftreten einer Modifikation betrachten zu dürfen. Auf welchen Nährstoff des Substrates sie sich bezog, kann dabei naturgemäß nicht immer so leicht nachgewiesen werden, wie bei einem spezifischen Zuckernährboden durch den Farbumschlag des beigegebenen Indikators. So zeigte gerade der erstgenannte der beiden beschriebenen Stämme außer den tiefrot gekernten auch blasse Knötchen, die zum Teil an Größe die anderen noch übertrafen. Bei der Weiterimpfung dieser Knötchen fanden sich dann entsprechende größere, stark gewölbte, bräunliche Kolonien neben den normalen. An welchen Nährstoff diese abweichend wachsenden Bakterien angepaßt waren, muß dahingestellt bleiben. Das zarte, typhusartige Wachstum des Stammes läßt jedenfalls von Anfang an eine ursprünglich relativ geringe fermentative Leistungsfähigkeit erwarten.

Was nun die Anschauung von der jeweiligen „Neuerwerbung“ der Vergärungsfähigkeit anlangt, oder von der Entwickelung „neuer“ Fermente in Anpassung an das Substrat, so möchte ich demgegenüber sehr skeptisch sein. Subjektiv erscheint mir die Schaffung einer neuen Fähigkeit aus dem Nichts unendlich viel schwerer verständlich, als die Regeneration einer verloren gegangenen Fähigkeit. Wir suchen aus theoretischem Interesse nach „Neuerscheinungen“ und sind aus diesem Grunde vielleicht zu sehr geneigt, einen Fall, der dem zu gehorchen scheint, ohne weiteres hinzunehmen. Aber es ist doch sehr überraschend, daß ausgerechnet das Laboratoriumsexperiment dazu erforderlich sein soll, diese Fähigkeit an den Tag zu bringen, die als Erweiterung der Ernährungsmöglichkeit für den Organismus von Wert sein könnte. Wenn man dagegen davon ausgeht, daß die Ausgangsform ein fermentativ reich begabter, saprophytischer B. coli war, so läßt die lange währende Entophytie ein allmähliches Einschlafen der Ausbildung praktisch nicht mehr in Frage kommender Fermente wohl verstehen, während vielleicht gleichzeitig andere Fermente intensiver gebildet werden, nämlich die eiweißspaltenden beim Uebergang zu mehr parasitischer Ernährungsweise. Damit wohl vereinbar wäre das vorzugsweise Auftreten heller Coli bei Darmkranken und das Wiederhellwerden rot adaptierter Coli auf Eiweißnährböden.

Und ob man dieser Auffassungsweise entgegenhalten darf, daß es beispielsweise nicht zu begreifen wäre, warum Typhusbazillen gerade auf

Rhamnosenährboden vergärende Knötchen bilden, während Rhamnose doch kaum je für sie als Nährstoff in Frage kommen dürfte, muß fraglich bleiben. Denn es ist noch viel weniger zu begreifen, warum der Typhusbacillus gerade ausgerechnet auf dieser Rhamnose, und noch dazu fast gesetzmäßig, Knötchen bildet, und nicht auf anderen Zuckern, die er normal auch nicht säuert. Auch hierauf scheint mir die Annahme der Regeneration einer Verarmungserscheinung besser eine Antwort zu geben, als die Neubildungstheorie. Ist es doch auch zu bedenken, daß für die Rhamnosevergärung noch nicht das Auftreten eines besonderen Fermentes erwiesen ist; es kann sich auch um ein Ferment handeln, das verschiedene Kohlehydrate angreift, nur vielleicht in verschiedenem Maße, je nach uns unbekannten dritten Bedingungen.

Weitere Versuche über die Modifizierbarkeit des B. coli durch verschiedene äußere Bedingungen, wie Ernährung, Giftwirkung u. a., die in der Literatur ausgiebig behandelt sind, wurden nicht angestellt, da sie über den Rahmen der vorliegenden praktischen Aufgaben hinausgingen.

Transformation.

Unter Transformationen seien diejenigen Stammesveränderungen verstanden, welche nach Art der Modifikationen ursprünglich durch äußere Bedingungen veranlaßt werden, welche aber sehr beständig sind. Der Begriff der Transformation deckt sich etwa mit demjenigen der Fluktuation im Sinne von Toenniessen, sowie weitgehend mit demjenigen der Dauermodifikation von Jollos. Die Einführung eines besonderen Namens erscheint nur deshalb wünschenswert, weil die Transformationstypen noch Modifikationen erleiden können; der Name der Fluktuation aber wird besser für die individuelle oder fluktuierende Variabilität verwendet.

Unter meinem Materiale von B. coli konnte ich in bezug auf die Zuckervergärung keine Transformationen feststellen. Möglicherweise gehört hierher die eine oder andere der später noch zu erwähnenden Wachstumsformen. Sichere Transformationen scheinen die Toenniessenschen „Fluktuanten“ des B. pneumoniae Friedländer zu sein.

Cyclomorphose.

Eine besondere Art der Vielgestaltigkeit begegnet einem dann, wenn man mit sehr alten Coli-Kulturen arbeitet. Man findet dann häufig, daß von ursprünglich runden und oberflächlich glatten Kolonien am Rande ein feiner, sich weit ausstreckender, leicht höckeriger Saum ausgeht. Impft man nun von der ursprünglichen Kolonie und von dem trockenen davon ausgehenden Teile etwas ab und legt davon neue Platten an, so erhält man zwei verschiedene Typen von Kolonien. Der Mittelteil ergibt wiederum Kolonien, welche der Ausgangskolonie gleichen. Von dem Randsaume leiten sich große, flache, trockene Kolonien ab, die grundverschieden von den erstgenannten erscheinen. Beide Typen erhält man noch bequemer dann, wenn man die verlängerte Zuchtdauer nicht auf die Agarplatte verlegt, sondern in ein Bouillonröhrchen, wie das bei dem Baerthleinschen Verfahren der Dauerbebrütung von Bouillon-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

kulturen der Fall ist. Beim Ausstrich finden sich dann getrennte reine Kolonien beider Typen nebeneinander.

Untersucht man nun mikroskopisch die Bakterien, welche die beiden Kolonietypen zusammensetzen, so findet man, daß auch sie verschieden sind.

Die Bakterien der saftigen, irisierenden Anfangskolonien sind lange Stäbchen; die Bakterien der trockenen, mattglänzenden, abgeleiteten Kolonien sind kurz, dick und plump, manchmal geradezu kokkenförmig. Beide Typen von Bakterien erweisen sich bei der Weiterimpfung in nicht zu langsamer Folge als erblich konstant, sowohl in bezug auf die Gestalt der Individuen, als auch auf das Aussehen der Kolonien. Trotzdem lassen sie sich ineinander überführen, denn einerseits waren die kokkenähnlichen ja erst aus den stäbchenförmigen gewonnen, und andererseits ergibt die kokkenähnliche Form nach Ueberimpfung auf Serum oder nach längerem Stehenlassen der Kulturen bei Rückübertragung auf Endo-Agar vereinzelte Kolonien von stäbchenförmigen Bakterien.

Diese Spaltung in zwei nach ihrer Größe verschiedene Individuenformen tritt nach mehr oder minder langer Zeit bei jedem Coli-Stamme auf, ist also keine zufällige Erscheinung, sondern zeigt den Charakter eines gesetzmäßigen Vorganges.

Aus diesem Grunde ist es berechtigt, den beiden Typen eigene Namen zu geben. Als solche schlage ich vor, einstweilen die Bezeichnung rhabdocytische Phase für die stäbchenartige Form und coccocytische Phase für die kokkenartige Form zu wählen.

Der Vergleich mit anderen Bakterien lehrt, daß auch bei ihnen die einzelnen Individuen in zwei morphologisch verschiedenen Typen auftreten können, So ist das unter anderem von Kokken, Vibrionen und zahlreichen Bakterien bekannt, und insbesondere von letzteren läßt es sich jederzeit leicht bestätigen. Das legt die Vermutung nahe, daß es sich hier um einen weitverbreiteten Vorgang handelt, vielleicht um einen Vorgang, der bei allen Bakterien unter geeigneten Verhältnissen mehr oder weniger klar und leicht festzustellen ist. Mit dieser Annahme einer allgemeinen Verbreitung des Vorkommens zweier Phasen bei den Bakterien erhebt sich von selbst die Forderung, dies Verhalten zu erklären. Den gegebenen Weg hierfür bietet der Vergleich mit anderen Organismen.

Erwiesenermaßen handelt es sich bei der rhabdocytischen und coccocytischen Phase der Bakterien um Abkömmlinge derselben Ahnenreihe, desselben Klones. Der Hauptunterschied besteht in der Verschiedenheit ihrer Größe. Es wäre also zunächst festzustellen, wo etwa im Organismenreiche ähnliche Differenzen in der Zellengröße bei Abkömmlingen der gleichen Aszedenz vorkommen, und wo der Grund dafür bekannt ist. Ein Vergleich, der sich unter diesem Gesichtspunkte einem sofort aufdrängt, ist derjenige mit der Entwickelungsgeschichte der Echinodermen. Bei diesen können im Experimente junge Larvenstadien gezüchtet werden, welche kleinere Zellen haben als die normalen. Und in diesem Falle ist es bekannt, daß die geringere Zellengröße auf künstliche Parthenogenese zurückzuführen ist, daß also die Larven mit kleineren Zellen aus unbefruchteten Eiern hervorgegangen sind. Der Grund für dies Verhalten ist in den Kernverhältnissen zu suchen. Nach dem Prinzip der Kern-Plasma-Relation besteht ein bestimmtes Verhältnis zwischen Kerngröße und Plasmamenge bzw.

Zellgröße. Nun sind bei den parthenogenetisch sich entwickelnden Larven die Zellkerne haploid, bei den amphigenetisch entstandenen aber diploid, und mit dieser Wertigkeit der chromatischen Bestandteile geht eine geringere oder beträchtlichere Größe der Kerne Hand in Hand. Es ist also der Besitz haploider Kerne, auf den letzten Endes die geringere, der Besitz diploider Kerne, auf den die beträchtlichere Größe gleichwertiger Larvenzellen bei Echinodermen zurückzuführen ist. Ganz ähnliche Verhältnisse sind auch von Pflanzen bekannt, bei denen ebenfalls die Zellgröße durch die Kerngröße bzw. Kernwertigkeit beeinflußt wird.

Es liegt nun außerordentlich nahe, das gleiche Verhalten auch für die Bakterien anzunehmen. Bei diesen sind die Verhältnisse aber wesentlich verwickelter. Noch ist bekanntermaßen bei den Bakterien die Frage nach dem Vorhandensein und der Natur des Kernes nicht definitiv geklärt. Wenn wir also des weiteren von der Annahme ausgehen wollen, daß die Bakterien, ebenso wie andere Pilze, Zellkerne besitzen, so soll dies ohne Diskussion der Gründe, welche dafür oder dagegen sprechen, im Anschluß an die Anschauungen von Arthur Meyer geschehen, der gewisse, nach besonderen Methoden darstellbare Gebilde im Innern der Bakterienzelle als Kerne anspricht. Aber auch wenn dies der Fall ist, so ist damit für die vorliegende Frage noch nichts Entscheidendes gewonnen, denn weder ist der Zellkern bei B. coli bislang beschrieben worden, noch sind etwa gar Differenzen in Kerngröße oder Kernzusammensetzung zwischen rhabdocytischer und coccocytischer Phase hier oder bei anderen Bakterien festgestellt. So ist es zunächst nichts als eine Hypothese, wenn man annimmt, daß die rhabdocytische und coccocytische Phase der Bakterien der diploiden und haploiden Phase der höheren Pflanzen entsprechen.

Nimmt man dies aber als Arbeitshypothese hin, so eröffnet sich damit die Möglichkeit zu weiteren Schlüssen.

Während soeben das Auftreten großzelliger diploider und kleinzelliger haploider Individuen bei den Echinodermen als das Resultat eines Experimentes angeführt wurde, kommt jetzt wieder in Erinnerung, daß bei der Mehrzahl der Pflanzen, und nicht zum wenigsten bei den Algen und Pilzen, haploide und diploide Zellen eine große Rolle spielen. Bei diesen baut sich ja auf dem Wechsel von haploider und diploider Phase ein Generationswechsel auf. Das führt zu der Annahme, daß auch bei den Bakterien ein gleiches Verhalten vorliegen möge.

Ich glaube daher annehmen zu sollen, daß bei B. coli, und mit ihm auch bei anderen Bakterien, ein Generationswechsel vorkommt: rhabdocytische und coccocytische Phase der Bakterien sind miteinander durch einen Generationswechsel oder Phasenwechsel verbunden.

Daß dieser Generationswechsel nicht so rhythmisch abläuft wie bei vielen Pflanzen, insbesondere bei höheren Kryptogamen, kann nicht überraschen, da schon lange bekannt ist, daß auch bei Algen und anderen Pilzen der Rhythmus des Generationswechsels durch die Bedingungen der Züchtung nicht nur stark beeinflußt, sondern geradezu umgewälzt werden kann.

Der Versuch, einen bindenden Beweis für das Vorhandensein eines Generationswechsels bei B. coli zu liefern, dürfte auf sehr große Schwierigkeiten stoßen. Er würde erbracht sein, wenn es gelänge, eine Differenz der Kernwertigkeit zwischen rhabdocytischer und coccocytischer

Phase nachzuweisen. Ob das mit den uns zur Verfügung stehenden Hilfsmitteln möglich ist, muß dahingestellt bleiben. Aber noch eine besondere Komplikation ist hierbei wohl im Auge zu behalten. Bei sehr vielen Pflanzen geht infolge Wegfalles der Reduktionsteilung einerseits und der Kernverschmelzung andererseits der Wechsel zwischen diploider und haploider Phase verloren, derart, daß die Kerne dauernd die gleiche Phase zeigen, mag sie nun haploid oder diploid sein. Hier ist also der Kernphasenwechsel, auf dem primär sich der morphologische Generationswechsel aufbaute, sekundär in Verlust geraten; nur der morphologische Generationswechsel selbst ist erhalten geblieben und muß nun auf rein vergleichend-morphologischem Wege auf denjenigen bei kernphasenwechselnden Pflanzen zurückgeführt werden. Solche Verhältnisse könnten sehr wohl auch bei Bakterien vorliegen; in diesem Falle würde selbst ein tieferes Eindringen in das Problem des Bakterienzellkernes für die vorliegende Frage nichts erbringen, und man wäre ausschließlich auf morphologische und biologische Vergleichung angewiesen.

Mit dem beschriebenen Auftreten einer rhabdocytischen und einer coccocytischen Form ist nun noch nicht alles erschöpft, was der Dauerbebrütungsversuch ergibt.

Verwendet man als Nährboden gewöhnlichen Agar, so scheinen auf den ersten Blick tatsächlich nur die beiden Typen aufzutreten. Anders liegt es mit dem Endo-Agar, der sich damit als ungleich geeigneteres Substrat für derartige Untersuchungen erweist. Vielfach ohne weiteres, manchmal aber erst nach häufiger Wiederholung des Ausstreichens auf Endo-Agar zu verschiedenen Zeiten, unter Umständen auch gar nicht, findet man, daß sich im ganzen vier, bei genügend rascher Folge der Weiterimpfung erblich ziemlich feste Erscheinungsformen des gleichen Coli-Stammes feststellen lassen.

Alle vier gehen von einer Ausgangskolonie aus, nämlich derjenigen, mit welcher das benutzte Bouillonröhrchen beimpft wurde. Alle vier sind unter den gleichen Bedingungen entstanden, nämlich bei der Dauerbebrütung unter dem Einfluß ihrer eigenen Stoffwechselprodukte. Alle vier wachsen nebeneinander unter den gleichen Verhältnissen, nämlich auf der Endo-Platte, die zum Ausstreichen verwendet wurde. Das zeigt, daß in ihrem Auftreten die Nachwirkung einer Modifikation in dem Sinne, wie beim Hellerwachsen mancher Coli-Stämme nach dem Aufenthalt auf Serum, nicht in Frage kommt. Die Mehrzahl der Coli-Stämme läßt sich in diese 4 verschiedenen Typen aufspalten, wenn es auch bei manchen gelegentlich schwer oder nicht möglich ist, alle zu erhalten. Diese Typen sind bei den einzelnen Stämmen nicht vollständig gleich, zeigen sogar manchmal beträchtliche Abweichungen. Aber stets scheinen sie in ihren Hauptcharakteren so weit miteinander übereinzustimmen, daß man ohne weiteres imstande ist, die einzelnen Typen miteinander zu homologisieren. Aus diesem Grunde möchte ich auch in dem Auftreten der weiteren Formen einen gesetzmäßigen Vorgang erblicken.

Ehe näher darauf eingegangen werden kann, seien zunächst einmal die 4 Typen eines der untersuchten Coli-Stämme nach dem Aussehen ihrer Kolonien auf Endo-Agar nach 24-stündiger Bebrütung kurz beschrieben.

Typ A: Die Kolonien sind kreisrund und scheibenartig, saftig; ihr Rand ist glatt, ihre Oberfläche eben, manchmal mit der Andeutung eines zentralen Nabels versehen, stets glänzend und bei größeren stark irisierend. Dies war der Typus, mit welchem das zur Untersuchung verwendete Bouillonröhrchen ursprünglich beimpft worden war.

Typ. B: Die Kolonien sind kreisrund und saftig, scheibenförmig, mit glattem Rande; die Oberfläche zeigt einen mehr oder weniger großen, deutlich hervortretenden Nabel, welcher von tief einschneidenden, radiären, unregelmäßigen Furchen umgeben ist; der Rand pflegt wieder glatt und glänzend zu sein.

Typ C: Die Kolonien zeigen ein verschiedenes Aussehen, je nachdem sie sich frei entwickeln können oder durch benachbarte Kolonien in ihrer Entwickelung gehemmt werden. Die frei wachsenden Kolonien sind groß und flach, weit auslaufend; eine zentrale Erhebung ist deutlich zu erkennen, von welcher dann nach allen Seiten sich die Kolonie gleichmäßig abdacht. Die Oberfläche ist leicht gehöckert und besitzt einen charakteristischen, trockenen Mattglanz. Die unter Druck wachsenden Kolonien lassen meist deutlich zwei Zonen unterscheiden: einmal eine Randzone, welche den randlichen Teilen der frei wachsenden Kolonien gleicht und je nach dem Grade des Druckes schmaler oder breiter ist, und ein Zentralgebiet. Dies ist scharf von der Randzone abgesetzt, als Scheibe darüber hervortretend, und zeigt selbst wieder eine langsame Erhebung zur Mitte hin, die unregelmäßig höckerartig hervortritt. Die Oberfläche des Mittelstückes ist demnach uneben und weist einen leichten Glanz auf. Die Identität der beiden hier zusammengefaßten, äußerlich recht verschiedenen Typen ist durch Abimpfen von verschiedenen Stellen der Kolonien und verschieden dichtes Ausstreichen mit Leichtigkeit zu erweisen, wenn auch eine geringe Fixierung beider Wachstumsformen durch wiederholte Selektion möglich ist.

Typ D: Auch bei diesem Typ sind die Kolonien, je nach ihrer Entfaltungsmöglichkeit, sehr verschieden. Stark unter Druck wachsende Kolonien haben fast die gleiche Gestalt, wie diejenige von Typ A. Ist ihnen einiger Spielraum bei reichlicher Ernährung geboten, so entwickeln sich die Kolonien regelmäßig lappig, mit glatter, glänzender, leicht unebener Oberfläche. Stehen die Kolonien frei auf dünnem Nährboden, so bekommen sie ein Aussehen, welches demjenigen von Typ C sehr ähnlich ist. Auch sie laufen dann allseitig breit aus und bilden flach ansteigende Kegel; ihre Oberfläche ist aber nicht matt, sondern stets lebhaft glänzend, und ihre Skulptur ist um ein geringes gröber als diejenige des Typ C. Von allen ist Typ D derjenige, welcher am labilsten in seiner Gestalt ist, ohne daß seine verschiedenen Erscheinungsformen jedoch zum konstanten Auftreten, auch unter abweichenden Bedingungen, gebracht werden könnten.

Verwendet man für die 4 Typen statt des Endo-Agars gewöhnlichen Nähragar, so nähern sich die Typen A und B in ihrem Aussehen derartig, daß sie kaum voneinander noch unterscheidbar sind; im Gegensatze dazu lassen sich die sonst einander viel ähnlicheren Typen C und D durch das Vorhandensein und den Mangel des Glanzes bei der ausgebreiteten Form deutlich trennen.

Die mikroskopische Untersuchung der Bakterien, welche die einzelnen Kolonietypen zusammensetzen, ergibt, daß die Typen A und B von Bakterien der rhabdocytischen Phase, die Typen C und D von solchen der coccocytischen Phase gebildet werden. Durchgehende Unterschiede zwischen den Bakterien der phasengleichen Kolonietypen ließen sich im ganzen nicht auffinden. Nur in einem Falle hatte ich den Eindruck, als ob die Bakterien des Typ A im flammenfixierten Präparate stärkere Schrumpfungserscheinungen aufwiesen als diejenigen des Typ B; bei einem anderen Stamme waren die Stäbchen des Typ B im Durchschnitt kürzer als diejenigen von Typ A.

Länger fortgesetzte Zucht lehrte nun, daß die 4 gezüchteten Typen einander nicht völlig gleichwertig sind. Als sehr konstant in seinem Aussehen erwies sich Typ C, abgesehen natürlich von den Verschiedenheiten, welche durch die Art des Milieus bedingt waren. Ebenso war der an sich so variable Typ D in seiner Weise ganz konstant und zeigte niemals Uebergänge, sei es makroskopisch im Bau der Kolonien zu Typ C, von dem er in bezug auf das Aussehen der Einzelindividuen nicht zu trennen war, sei es mikroskopisch im Bau der Einzelindividuen zu Typ A, dem er manchmal äußerlich sehr ähnlich wuchs. Im Gegensatz dazu verwischte sich die anfänglich so scharfe Grenze zwischen den Typen A und B, wenigstens bei dem beschriebenen, genauer untersuchten Stamme, allmählich immer mehr, derart, daß besonders in den Ausstrichen von Typ B häufig und in allmählich mit dem Alter der Ausgangskultur zunehmendem Grade Formen sich einstellten, die eine Brücke zu dem im Bau der Einzelindividuen ja schon von Anfang an mit ihm übereinstimmenden Typ A bildeten.

Wenn ich nun auch im Auftreten dieser 4 verschiedenen Kolonietypen bei einem Stamme, weil es sich um einen Vorgang handelt, zu welchem die prospektive Potenz jedem Bakter innewohnt, nicht eine Neubildung erblicken will, so ist noch zu erörtern, wie man diese vielfache Artaufspaltung zu erklären hat.

Hierfür stehen zwei Wege offen. Entweder kann es sich dabei um Modifikationen oder Transformationen handeln, deren Ursachen allerdings nicht direkt zu ermitteln sind und wohl in der Ansammlung von Stoffwechselprodukten in den alten Kulturen zu erblicken sind. Besonders für die Entstehung der Typen A und B sowie die verbindenden Zwischenformen halte ich diese Erklärung für möglich. Der andere Weg der Erklärung eröffnet sich, wenn man wiederum auf die Verhältnisse des Generationswechsels bei anderen Pflanzen zurückgreift. Bei diesen ist es bekannt, daß innerhalb einer cytologischen Phase noch ein „homologer“ Generationswechsel auftreten kann, und gerade bei den Florideen und den Florideenpilzen kommt ein solches Verhalten nicht selten vor. Möglicherweise handelt es sich also beim Auftreten verschiedener Typen innerhalb einer Phase bei den Bakterien ebenfalls um einen homologen Generationswechsel. Insbesondere für das Auftreten der Typen C und D möchte ich dies nicht für unwahrscheinlich halten. Irgendeine definitive Erklärung kann nach den mir vorliegenden Reihen noch nicht gewagt werden.

Handelt es sich nun tatsächlich bei der Aufspaltung in verschiedene Typen um einen gesetzmäßigen Vorgang, wie wir es durch die Annahme eines Generationswechsels voraussetzen würden, so kann man erwarten, daß die nicht hierher gerechneten Wandlungen eines Bakterienstammes, wie die Anpassungen an die Ernährungsweise, bei verschiedenen der zyklischen Typen vorkommen. Dies ist in der Tat der Fall und wurde bereits von Baerthlein für sein B. coli mutabile eingehend beschrieben. Bei diesem gelang es ihm, sowohl von der rhabdocytischen wie von der coccocytischen, normalerweise hellwachsenden Form, je eine auf Endo-Agar rotwachsende zu züchten. Ebenso kann man bei

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

den verschiedenen Formen auch den Einfluß des Wachstums unter bebesonderen Nährbodenverhältnissen deutlich wahrnehmen.

Neomorphose.

Im schroffen Gegensatz zu den bisher behandelten Formen der Umwandlung steht die Neomorphose oder Umwandlung mit Aenderung des Artcharakters. Sie ist dasjenige, was gewöhnlich unter dem Namen einer „Mutation“ gemeint wird. Charakterisiert ist sie dadurch, daß bei ihr eine tatsächliche Aenderung der Genengarnitur durch Umwandlung, Ausmerzung oder Neuerwerbung von Erbfaktoren stattfindet. Eine solche Mutation läßt sich nur durch das Verhalten des fraglichen Charakters beim Geschlechtsvorgang erweisen. Bei Bakterien, bei denen ein Geschlechtsvorgang noch nicht bekannt ist, kann man daher eine Mutation nicht nachweisen. Zweckmäßig wird daher auch die Bezeichnung als Mutationen für Bakterienwandlungen vermieden. Damit ist aber keineswegs gesagt, daß echte Neomorphose nicht auch bei Bakterien und anderen, sich vorwiegend vegetativ vermehrenden Organismen vorkomme. Nach den bisherigen Kenntnissen sind wir aber noch nicht imstande, derartige Neomorphosen von Transformationen mit Sicherheit zu unterscheiden.

Formen, welche etwa als neomorphotisch verdächtig sein könnten, sind in dem mir vorliegenden Material während der Bearbeitung noch nicht aufgetreten.

Rückblick.

Betrachten wir rückblickend nochmals das, was bei den beschriebenen Zuchten von B. coli an verschiedenen Formen aufgetreten ist, so sehen wir, daß von den genannten Umbildungen, die weit verbreitet in der Literatur als „Mutationen“ geführt werden, keine einzige tatsächlich eine echte Neubildung ist.

Wenn das aber der Fall ist, wenn alle diese Veränderungen innerhalb einer Art stattfinden, so gehören sie mit zu den Artcharakteren im weiteren Sinne. Wir sehen uns also gezwungen, diesen Wandlungserscheinungen größtes Interesse zuzuwenden, da sie uns vielleicht erlauben, sicherer einzelne Arten unter den Bakterien zu unterscheiden, als das nach den bisherigen Methoden möglich war[1]).

Erforderlich ist dabei vor allem, nicht nur die Tatsache festzustellen, daß ein Bakter in verschiedenen cyclomorphotischen und pleomorphotischen Phänotypen auftreten kann, sondern auch die Bedingungen genau zu ermitteln, unter denen der Uebergang von einer zur anderen Erscheinungsform erfolgt. Und damit erheben sich Aufgaben, die an Schwierigkeit und Kompliziertheit nichts zu wünschen übrig lassen.

Ich bin mir wohl bewußt, daß ich mich in der vorstehenden Erörterung nur zu häufig auf den unsicheren Boden der Hypothese habe wagen müssen. Aber vielleicht ist die wichtigste Hypothese, zu der ich greifen zu sollen glaubte, die Hypothese vom Generationswechsel der Bakterien, geeignet, als Arbeitshypothese zu dienen. Denn durch diese Hypothese, die an sich zwar nicht neu ist (Arthur Meyer 1911, Nyberg 1912, Conradi-Bieling 1916), aber in der vorliegenden Fassung als unabhängig betrachtet werden darf, wird die Anschauung über die Natur der Bakterien in mancher Richtung beeinflußt. Müßte doch, wenn man allein den systematischen Gesichtspunkt in den Vordergrund stellt, die Mehrzahl der uns bekannten Bakterien-„Arten“ als „Fungi imperfecti“, als Pilze, deren Lebenszyklus noch nicht vollständig bekannt ist, betrachtet werden. Nach ihr haben wir die Bakterien nicht als primitive, sondern als hoch spezialisierte pflanzliche Organismen anzusehen, wie das ihre systematische Einordnung unter den Arthromyceten neben den Basidiomyceten, Ascomyceten und Chlamydomyceten durch Arthur Meyer schon voraussetzt. Und unter diesem Gesichtspunkte sind dann auch die biologischen Vorgänge bei ihnen zu beurteilen.

---

[1]) Ich möchte nicht verfehlen, bei der Gelegenheit hervorzuheben, daß **Baerthlein** bereits bei der Charakterisierung z. B. seiner Dahlemstämme sich der Mutationsweise (hier des Phasenwechsels) als eines Artmerkmales bedient hat; und ebenso versuchte Reiner Müller, das Auftreten von Modifikationen, die Knötchenbildung auf Zuckern, zur Artbegrenzung zu verwenden, ähnlich wie das nach **Eisenberg** für die Pestbazillen durch ihr Wachstumsverhalten auf Salzagar möglich ist.

Zusammenfassung.

1) Neomorphose oder das Auftreten neuer Formen unter Abänderung des Artcharakters ist bei Bakterien viel seltener, als gemeinhin angenommen wird.

2) Pleomorphose oder das Aufspalten in zahlreiche Formen ohne Abänderung des Artcharakters ist bei B. coli weitverbreitet.

3) Der scheinbare Erwerb neuer physiologischer Fähigkeiten ist bei B. coli vorwiegend als Modifikation von regenerativem Charakter zu verstehen.

4) Man kann eine rhabdocytische und eine coccocytische Phase bei B. coli unterscheiden.

5) Rhabdocytische und coccocytische Phase des B. coli scheinen miteinander in einem Wechselverhältnis zu stehen, das mit dem Phasenwechsel bei anderen Organismen große Uebereinstimmung aufweist.

6) Innerhalb der rhabdocytischen und coccocytischen Phase des B. coli lassen sich verschiedene Typen unterscheiden, die vielleicht als besondere Generationen im Entwickelungszyklus zu betrachten sind.

7) Die cyclomorphotischen und pleomorphotischen Erscheinungsformen des B. coli gehören zu den Artcharakteren und sind daher bei der Artdiagnose zu berücksichtigen.

8) Die bei B. coli gemachten Befunde scheinen nicht auf diese Art beschränkt zu sein, sondern allgemeine Bedeutung zu besitzen.

(G. C.)

Nachdruck verboten.

Ueber Typhusbazillen-Eiterungen.

[Aus dem I. pathologisch-anatomischen Institute der Königl. Ungarischen Universität in Budapest (Direktor: Prof. Dr. K. Buday).]

Von Dr. **B. Johan** jun., I. Assistenten.

Mit 5 Figuren.

Untersucht man die im menschlichen Organismus vorkommenden Eiterungen vom bakteriologischen Gesichtspunkt aus, so findet man als Eiterungserreger die verschiedensten Mikroorganismen. Am häufigsten kommen Staphylo- und Streptokokken vor, die deshalb auch Eiterkokken genannt werden. Außer diesen verursachen Gono- und Meningokokken eiterige Entzündungen. Damit sind aber noch keineswegs sämtliche Erreger der eiterigen Entzündungen aufgezählt, denn als solche müssen noch der Bac. mallei, Bact. coli, Bac. typhi, die Pneumokokken und Pneumobazillen erwähnt werden. Die Schädlichkeit dieser Bakterien für den menschlichen Organismus äußert sich gewöhnlich, mit Ausnahme des **Bac. mallei**, nicht in der Auslösung eiteriger Entzündungen: Der **Pneumococcus** ist der typische Erreger der fibrinösen Lungenentzündung, das Bact. coli lebt als harmloser Parasit im Darme, der Bac. typhi ist als Ursache des Abdominaltyphus anerkannt.

Die typhöse Schwellung der Peyerschen Haufen vereitert nie, vorausgesetzt, daß andere Bakterien sich nicht hinzugesellen; das mikroskopische Bild dieser Haufen entbehrt auch absolut des Gepräges einer Phlegmone, da ihr ja die polynukleären Leukocyten sozusagen vollkommen fehlen, und statt ihrer große, mononukleäre Zellen, sogenannte „Typhuszellen“, in Erscheinung treten.

Es kann also der Bac. typhi nicht in die Gruppe der sogenannten Eitererreger eingereiht werden, und trotzdem stoßen wir hier und da auf eiterige Entzündungen, aus denen als alleiniger Mikroorganismus nur der genannte Bacillus gezüchtet werden kann.

An der Prosektur und der Infektionsabteilung des k. u. k. Garnisonspitales No. XVI in Budapest, weiterhin an dem Leichenmateriale des I. pathologisch-anatomischen Instituts, bot sich mir Gelegenheit, mehrere solche Fälle zu finden, und im folgenden möchte ich meine diesbezüglichen Beobachtungen und Untersuchungen mitteilen.

Ich beginne mit der Besprechung von 3 einschlägigen Fällen, die schon ihrer Seltenheit wegen verdienen, daß ich sie ausführlicher schildere.

I. Fall. Hauptmann V. K., 41 Jahre alt, kam in einem seit 4 Wochen dauernden, fiebernden Zustande auf die Infektionsabteilung des Garnisonspitals No. XVI (Oberarzt Dr. Szécsy) mit der Diagnose eines Abdominaltyphus, wo sich bald zum typischen klinischen Bilde des Bauchtyphus Nackenstarre und andere Zeichen einer Gehirnhautentzündung gesellten. Bakteriologisch wurden im Blute Typhusbazillen nachgewiesen. Das Serum des Patienten agglutinierte bis zur Verdünnung 1:300. (Er war nicht schutzgeimpft.) Nach 4 Tagen starb er unter den Symptomen einer Meningitis.

Bei der Sektion konnte die klinische Diagnose bestätigt werden. Im Dünndarme fand sich aber nur eine schiefergraue Verfärbung der Peyerschen Haufen und ein einziges, markgroßes, gereinigtes Geschwür mit mäßig erhabenen Rändern. An den Gehirnhäuten fand sich ziemlich viel eitriges Exsudat, und zwar in größter Menge an den konvexen Flächen der Hemisphären.

Die Diagnose lautete: Meningitis purulenta baseos et convexitatis cerebri. Oedema cerebri. Intumescentia levioris gradus et partim pigmentatio grisea agminum Peyeri: ulcus

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

typhosum intestini ilei infimi. Intumescentia nodulorum lymphaticorum ileocoecalium et lienis levioris gradus. Degeneratio parenchymatosa cordis, renum et hepatis. Bronchitis diffusa catarrhalis et pneumonia hypostatica pulmonis utriusque. Oedema pulmonum.

Bakteriologisch wurden Blut, Galle, Milz, pneumonische Lungenteilchen und Eiter der Gehirnhäute untersucht. Wir impften aus diesen auf gewöhnlichen und Lackmuslaktoseagar nach Conradi-Drigalski. Die entwickelten Kolonien wurden durch Impfung auf entsprechende Nährböden und Agglutination identifiziert.

Wir erhielten aus dem Blute, der Milz und Galle Typhusbazillen in Reinkulturen. Aus den pneumonischen Lungenstücken entwickelten sich, neben vielen anderen Bakterien, auch Typhusbazillen.

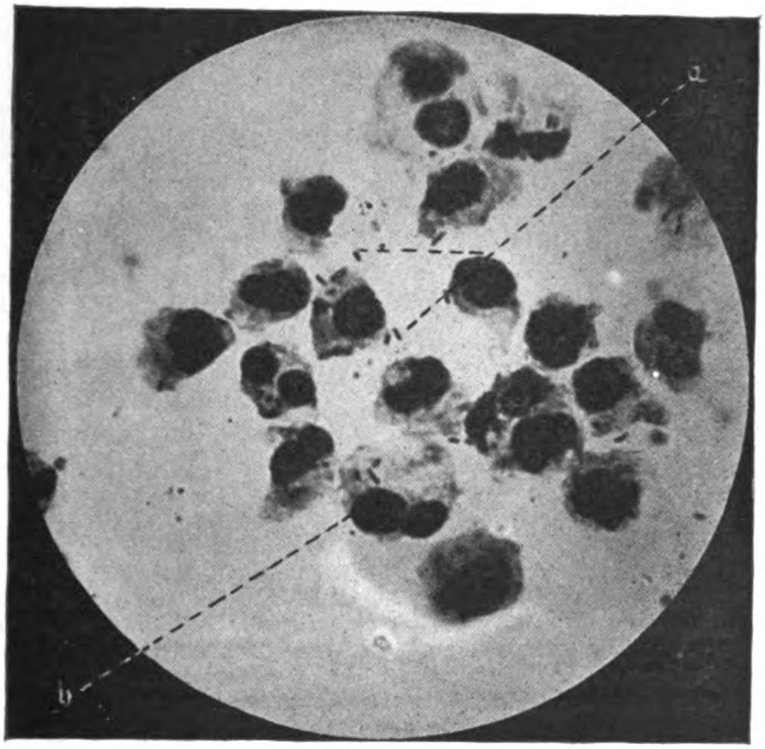


Fig. 1. Aus dem I. Falle. Strichpräparat aus dem Eiter der Meningen. Typhusbacillen (*a*). Leukocyt mit phagocytierten Typhusbazillen (*b*). Färbung: Karbolfuchsin. Zeiß: homogene Immersion. $^{1}/_{12}$ Projekt. Ok. 4.

Den Eiter der Meningen untersuchten wir zuerst in gefärbten Strichpräparaten, und fanden viele Gram-negative, morphologisch den Typhusbazillen vollkommen entsprechende Bazillen; ein Teil derselben lag ganz frei, ein weit größerer war aber den hier massenhaft vorhandenen Leukocyten einverleibt (Fig. 1). Kokken oder andere Bakterien wurden nicht gefunden. Als wir den Eiter auf verschiedene Nährböden (gewöhnlicher Agar, Ascites- oder Serumagar, Drigalski-Conradi-Nährboden) impften, erhielten wir immer nur rein Typhusbazillen.

Zwecks Bestimmung der Virulenz des gezüchteten Typhusstammes haben wir ihn nach der 4. Ueberimpfung (vor 12 Tagen wurde der Stamm aus dem Eiter herausgezüchtet) einem Meerschweinchen intraperitoneal eingeimpft. Das Tier (220 g schwer) erhielt eine Emulsion von 3 Normalösen einer 24 Stunden alten Kultur; es wurde zwar tags darauf ziemlich matt, nach einigen Tagen aber verhielt es sich wieder ganz normal. Der Versuch konnte, wegen des jetzigen großen Mangels an Tieren, nicht fortgesetzt werden, doch geht auch aus diesem einzigen Experimente schon hervor, daß die Virulenz dieses Stammes dem Meerschweinchen gegenüber stark herabgesetzt war.

Aus demselben Stamme stellten wir einen Impfstoff nach **Pfeiffer-Kolle** her (er enthielt im Kubikzentimeter 1000 Millionen Keime). Davon bekam ein Kaninchen 1 ccm in die Ohrvene. Die Injektion rief eine mäßige Leukopenie hervor. Das Serum desselben Tieres agglutinierte den eigenen Stamm nach 7 Tagen in der Verdünnung von 1 : 300, einen fremden Typhusstamm zwischen 1 : 200 und 1 : 300.

Das Gehirn und die Meningen wurden auch **histologisch** untersucht. In den letzteren befanden sich, den Strichpräparaten entsprechend, zahlreiche Leukocyten, die ziemlich viele Typhusbazillen enthielten. Außerdem konnten diese Bazillen zwischen den Zellen und sogar vereinzelt in den kleinen Blutgefäßen nachgewiesen werden. Die perikapillären und periadventitiellen Lymphräume des Gehirns sind nahe der Oberfläche mit polynukleären Zellen gefüllt.

Epikrise: Wir fanden bei einem Kranken, bei welchem durch die bakteriologische Untersuchung und die Sektion ein Bauchtyphus festgestellt werden konnte, eine eiterige Gehirnhautentzündung. Als Erreger dieser Meningitis muß der **Bac. typhi** anerkannt werden, da mit den verschiedensten gebräuchlichen Methoden überhaupt keine anderen Bakterien nachgewiesen werden konnten. Der geprüfte Typhusstamm entspricht in seinen morphologischen, kulturellen und biologischen Eigenschaften vollkommen anderen Typhusstämmen, nur ist seine Virulenz ziemlich niedrig.

Aus der Krankheitsgeschichte stellt es sich heraus, daß der Bauchtyphus schon seit 4 Wochen bestand. Bei der Sektion fanden wir die **Peyerschen** Haufen geschwollen, hyperämisch, grau verfärbt, und außerdem ein einziges kleines Geschwür oberhalb des Blinddarmes. Wenn wir die obenerwähnten anamnestischen Daten in Betracht ziehen, so müssen wir den Fall als einen protrahierten Typhusfall ansehen. Aus dem Sektionsbefunde könnte auch an ein Typhusrezidiv gedacht werden, doch fehlen hierzu in der Krankengeschichte genügende Anhaltspunkte.

II. Fall. Der 21 Jahre alte Infanterist E. L. bekam auf dem Schlachtfelde eine Kugel in seinen Schenkel. Bald darauf fing er an, zu fiebern. An der I. internen Universitätsklinik (Prof. **Bálint**) wurde bei ihm ein Bauchtyphus konstatiert, und er wurde deshalb mit einer therapeutischen Vaccination nach **Besredka** versehen, worauf er bald fieberfrei wurde. Nach 1 Monat ungefähr trat plötzlich wieder ein Fieber von 38,5° C auf; er bekam heftige Kopfschmerzen und starb noch denselben Tag.

Bei der Sektion (Prof. **Buday**) wurde an dem linken, oberen Teil der Stirn und an der inneren Seite des rechten Schenkels je eine kleine Narbe gefunden. Ebenso besteht oberhalb des inneren Höckers der linken Tibia eine oberflächliche, runzelige Vernarbung. Die Innenseite des Schädelknochens ist auf der linken Seite von kleinen Osteophyten fein gekörnt; dies beginnt am Tuber frontale und verläuft vom Sulcus longitudinalis 2—2,5 cm entfernt, fast bis zur Lambdanaht, wo die Osteophyten allmählich verflachen. Eine zweite Längsreihe von Osteophyten verläuft ein wenig oberhalb der linken Linea semicircularis superior von der Coronarnaht nach rückwärts. Die geschilderten 2 Reihen von Osteophyten sind voneinander 5 cm entfernt. Nachdem das Gehirn herausgenommen war, zeigten sich die Hirnwindungen der rechten Seite etwas abgeflacht. Die linke Hemisphäre ist im Verhältnis zur rechten quer ausgebreitet, und es läßt sich unter der Dura mater eine weiche Masse durchfühlen; die konvexe Oberfläche der linken Hemisphäre wird durch dieselbe stark abgeflacht. Diese subdurale Masse besteht aus ungefähr 200 ccm geruchlosem, zähem, gelblichgrünem Eiter. Die Wände des Eitersackes bestehen aus einem 2—2,5 mm dicken, narbigen Granulationsgewebe, dessen Innenfläche mit einer schmierigen, gelblichen Schicht belegt ist (Fig. 2). Auf der Schnittfläche, welche vor dem Schläfenpole geführt wurde, befand sich in der weißen Substanz ein zweiter, kleiner Abszeß. Zwischen beiden Abszessen konnte mit der Sonde keine Kommunikation nachgewiesen werden.

Im Dünndarme waren die Peyerschen Haufen mäßig grau verfärbt. Knapp oberhalb der Bauhinschen Klappe und dann 8 mm noch weiter nach oben befand sich je eine kleine oberflächliche Narbe.

Die Milz ist $1\frac{1}{2}$-mal vergrößert, die Follikel an der Schnittfläche sehr auffallend Beide Nieren stark blutreich. Am rechten Schenkelknochen befand sich am inneren Höcker ungefähr 8 cm oberhalb des Knies eine kleine Vertiefung, die mit Granulationsgewebe gefüllt ist. Es ist hier ein haselnußgroßer Teil des Knochens abgetrennt; außerdem befinden sich noch hier im Granulationsgewebe kleine Knochensplitterchen und Metallspäne.

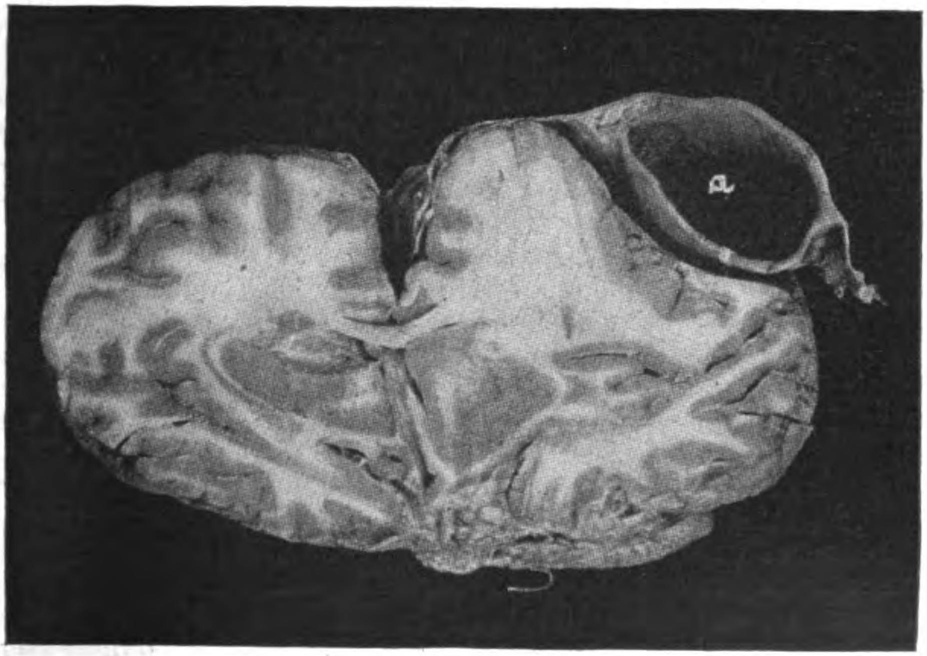


Fig. 2. Aus dem II. Falle. Duraabszeß.

Diagnose: Typhus abdominalis in stadio consanationis ulcerum intestini ilei. Abscessus saccatus subduralis, verosimiliter traumaticus hemisphaerium sinistrum cerebri comprimens. Abscessus gyri frontalis inferioris sinistri. Osteophytae calvariae. Endocarditis verrucosa valvulae bicuspidalis et valvularum semilunarium aortae. Status lymphaticus. Synechia callosa pleurae sinistrae cum scoliosi columnae vertebralis. Hyperaemia hepatis et renum. Vulnus sclopetarium consanatum femoris dextri cum fractura superficiali ossis femoris.

Mikroskopisch fanden wir in den nativen, vom Eiter des Duralsackes hergestellten Präparaten ziemlich viele gekörnte Zellen und Hämatoidinkristalle.

Bakteriologisch wurden die Galle aus der Gallenblase und der Eiter des duralen Sackes untersucht. Aus der ersteren konnte nichts herausgezüchtet werden. Im letzteren fanden sich schon im Strichpräparate ziemlich viele morphologisch und der Färbung nach dem Bac. typhi vollkommen entsprechende Stäbchen. Sie bildeten auf

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Conradi-Drigalski-Nährböden innerhalb 24 Stunden üppige, blaue, durchsichtige Kolonien. Die der ersten Plattenkultur entnommenen Kolonien wurden durch ein Agglutinationsserum vom Titer 1:10000 nur sehr schwach agglutiniert, während sie nach einmaliger Ueberimpfung auf gewöhnliches Agar bis zum Endtiter prompt agglutiniert wurden. Es ist nicht unbekannt, daß frisch aus dem Körper gezüchtete Typhusstämme hier und da schwer oder überhaupt nicht agglutiniert werden können. Ich selbst hatte mehrmals Gelegenheit, solche Stämme aus Kotproben zu isolieren; in der letzten Zeit fand ich einen solchen Stamm auch im Blute eines typhusverdächtigen Kollegen.

Histologisch untersuchte ich die Wand des Eitersackes und des kleinen Abszesses der Hemisphäre. Der erstere besitzt eine äußere, dem Schädelknochen zugewandte, und eine innere, die Hirnwindung abflachende konvexe Wand. Beide treffen zumeist in einem ungefähr rechten Winkel zusammen. Die äußere Wand besitzt 2 Schichten: eine äußere, der Dura mater entsprechende, und eine innere, die unmittelbar die Innenfläche des Sackes auskleidet. Diese letztere ist recht zellreich, die Zellen sind in der Nachbarschaft der Dura mater meist Fibroblasten und Plasmazellen, nach innen fast ausschließlich große, fettführende Zellen (Pseudoxanthomzellen). Aus der äußeren fibrösen Schicht ziehen zahlreiche, feine Gefäßchen in die zellreiche Zone. Die erwähnten Pseudoxanthomzellen sind besonders unmittelbar an der Innenfläche sehr zahlreich. Das Fett ist doppellichtbrechend und besteht in den mit Formalin fixierten Gefrierschnittpräparaten hauptsächlich aus feinen Nadeln. Außerdem befindet sich hier noch ziemlich viel eisenhaltiges Pigment, meist in Zellen eingeschlossen, und endlich vereinzelt Hämatoidinkristalle.

Auffallend ist in den Präparaten, daß überall schon ziemlich reichlich neugebildete Kapillaren und viel faseriges Bindegewebe vorhanden sind. Letzteres ist in den, mit Silber und Gold imprägnierten Schnittpräparaten recht ins Auge fallend. Wir finden hier derbe, dickere Fasern und Faserzüge, die ihren Ursprung an der Wand kleiner Blutgefäße nehmen; in ihrem Verlauf werden sie durch zahlreiche dünne Fäserchen verbunden, die mit den Gitterfasern der Leber eine große Aehnlichkeit haben. In den durch diese Fasern gebildeten Maschen sitzen die oben erwähnten Fettzellen, die hierdurch fixiert werden (Fig. 3). Aus dem geschilderten Bilde geht hervor, daß diese Zellen aus fixen Zellen entstandene Phagocyten sind, die also die Zerfallsprodukte nicht etwa in der Weise fortschaffen, daß sie dieselben einverleiben und samt ihnen sich von hier entfernen, sondern daß sie dieselben durch ihre innere Zelltätigkeit am Ort und Stelle vernichten. Zwischen diesen Zellen sind vereinzelt auch Leukocyten zu finden; sie enthalten einige Bazillen, die nach ihrem tinktoriellen Verhalten und mikroskopischen Aussehen Typhusbazillen entsprechen. Die innere Wand des Eitersackes zeigt ein der äußeren ganz ähnliches Bild, nur ist sie mit den dünnen Gehirnhäuten fest verwachsen.

Die Gehirnsubstanz enthält in der Umgebung des kleineren intracerebralen Abszesses nebst ziemlich vielen Rundzellen und Körnchenzellen auch einige längliche Fibroblasten.

Epikrise: Aus den Daten der Anamnese stellt es sich heraus, daß der Kranke einen Monat vor seinem Tode einen Bauchtyphus überstand. Die aus dem duralen Abszesse gezüchteten Typhusbazillen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

stammen wahrscheinlich aus seiner damaligen Krankheit. Der Abszeß scheint schon ziemlich alt zu sein, wofür das histologische Bild seiner Wand und die gefundenen Osteophyten an der inneren Fläche des Schädeldaches sprechen. Seine Entstehung ist mit Wahrscheinlichkeit auf die Vereiterung einer älteren, traumatischen Blutung (Hämatom) zurückzuführen, worauf die große Menge des vorhandenen Blutfarbstoffes hinweist. Es ist nicht wahrscheinlich, daß der Abszeß zuerst entstand und die Blutung sich nachher hinzugesellte, und zwar deshalb nicht, weil die Wand des Abszesses älter als 1 Monat zu sein scheint.

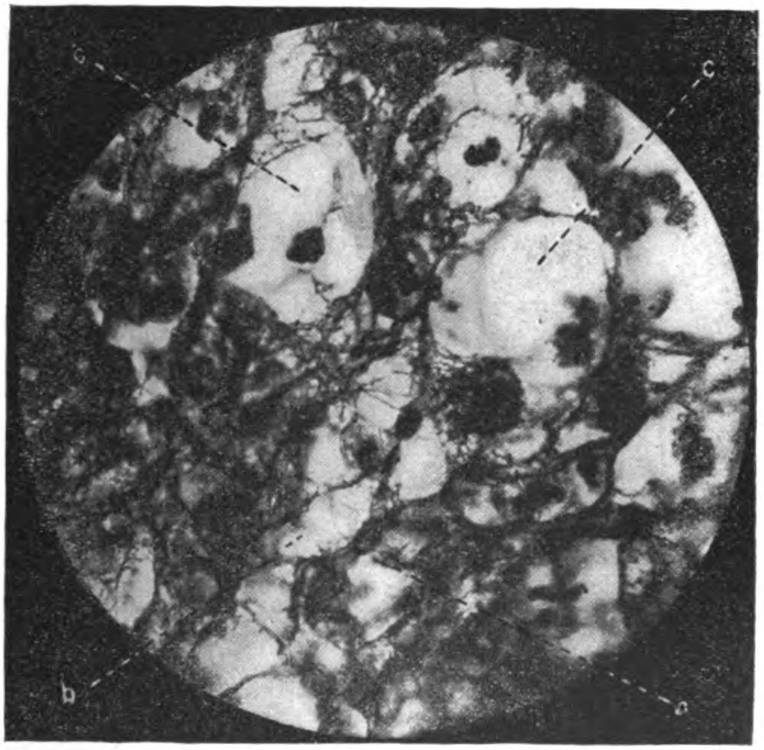


Fig. 3. Aus dem II. Falle. Derbe Bindegewebsfasern (*a*), feine Gitterfasern (*b*), große fettführende Zellen (*c*). Bielschowsky-Maresch Silber-Goldimprägnation. Zeiß: homogene Immersion. $^1/_{12}$ Kompens.-Okular 4.

Die Schußwunde des rechten Schenkels und die Narbe am linken oberen Teile der Stirn sprechen auch für einen traumatischen Ursprung.

III. Fall. Die 28 Jahre alte Frau S. B. hatte vor 7 Jahren einen schweren Bauchtyphus überstanden. Vor 2 Jahren litt sie an heftigen Bauchschmerzen und Fieber, was sich bald nochmals wiederholte. Ungefähr 2 Wochen vor ihrem Tode stellte sich mit Krämpfen, Bauchschmerzen und Schüttelfrost ein hohes Fieber ein. 3 Tage darauf begab sie sich mit ausgesprochener Gelbsucht auf die II. interne Klinik der Universität (Prof. Jendrassik). Der Urin enthielt reichlich Gallenfarbstoff, der Kot war acholisch. Die Zahl der Leukocyten betrug im Blute 14000. Die Diagnose wurde auf eitrige Gallengangentzündung und Steineinklemmung gestellt und deshalb wurde sie 3 Tage vor dem

Tode im St. Stephan-Spital (von Prof. **Hültl**) operiert. Es wurde bei ihr eine Cholecystotomie gemacht; das Vorhandensein eines Steines konnte bei der Operation weder in der Gallenblase noch in den Gallengängen ermittelt werden. Die Gallenblase wurde an das Peritoneum angeheftet, geöffnet und durch die Wunde ein Drainrohr eingeführt.

Bei der **Sektion** fand ich folgendes: Die Leber war mäßig vergrößert, Leberkapsel mit Fibrin mäßig belegt. Auf der Schnittfläche sind mohn- bis hirsekorngroße, mit gelbgrünem Eiter gefüllte Abszesse zerstreut, in deren Umgebung das Leberparenchym blutreich ist. Außerdem finden wir in kleineren und größeren Aesten der Vena portae an der Wand haftende Thromben, die hier und da schon erweicht sind. In der Gallenblase befand sich ein wenig Eiter. In dem Halse derselben war 1, im Ductus cysticus waren 2 abgeschliffene, tetraëderförmige Gallensteine von gemischter Zusammensetzung. Der Ductus choledochus war von normaler Weite.

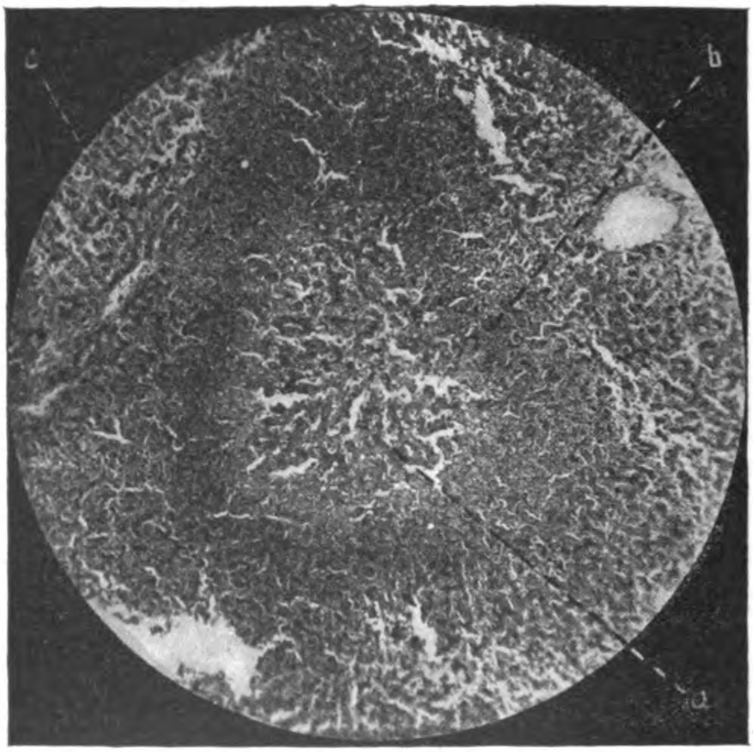


Fig. 4. Aus dem III. Falle. Leber. Zentraler Teil eines Leberläppchens ohne Kernfärbung (*a*). Mit Leukocyten infiltrierte Stelle (*b*), Leberzellen mit erhaltener Kernfärbung (*c*). Hämatoxylin-Eosinfärbung. **Zeiß**: apochrom. Obj. 16 mm. Kompens.-Okular 2.

Diagnose: Cholecystotomia ante tres dies facta, cholecystide purulenta indicata. Cholecystitis chronica calculosa et abscessus multiplex hepatis ex cholangitide suppurativa extensa. Propagatio inflammationis ad venam portae, cum thrombosi parietali trunci ac ramorum venae portae. Icterus gravis. Degeneratio parenchymatosa cordis, renum et hepatis. Oedema pulmonum.

Wir impften vom Eiter der Gallengänge auf Agar und **Conradi-Drigalski**sche Lackmuslaktose-Nährböden. Wir trugen vom Eiter eine Normalöse voll auf die Agarfläche einer **Petri**-Schale von 10 cm Durchmesser; 24 Stunden darauf erhielten wir ungefähr 60 gut entwickelte Typhuskolonien, die schon in der ersten Generation mit einem agglutinierenden Serum vom Titer 1 : 10000 bis zur Verdünnung 1 : 12000 prompt agglutiniert wurden und auch sonst vollkommen den Typhusbazillen entsprachen.

Wir fertigten weiter von Leberstückchen histologische Präparate an. Es fällt in denselben gleich auf, daß in der Mitte vieler Leberläppchen eine Kernfärbung fast vollkommen vermißt wird. An der Grenze des normalen Lebergewebes finden wir eine Zone mit recht vielen Rundzellen und fadenförmigem Fibrin (Fig. 4).

Das Bindegewebe ist mit Leukocyten ziemlich stark infiltriert. Die Infiltration ist um die Gallengänge herum am massenhaftesten; sie ist aber nicht bloß auf das Bindegewebe lokalisiert, sondern breitet sich auf die anstoßenden Teile der Leberacini aus und bildet so Abszesse, die ein Leberläppchen an Größe übertreffen. In den Lumina der portalen Gefäßäste sitzen Thromben, die hier und da einer Vereiterung entgegengehen. Die Gallengänge sind meist mit Leukocyten gefüllt, die mit den Leukocyten des Bindegewebes im Zusammenhange stehen (Fig. 5).

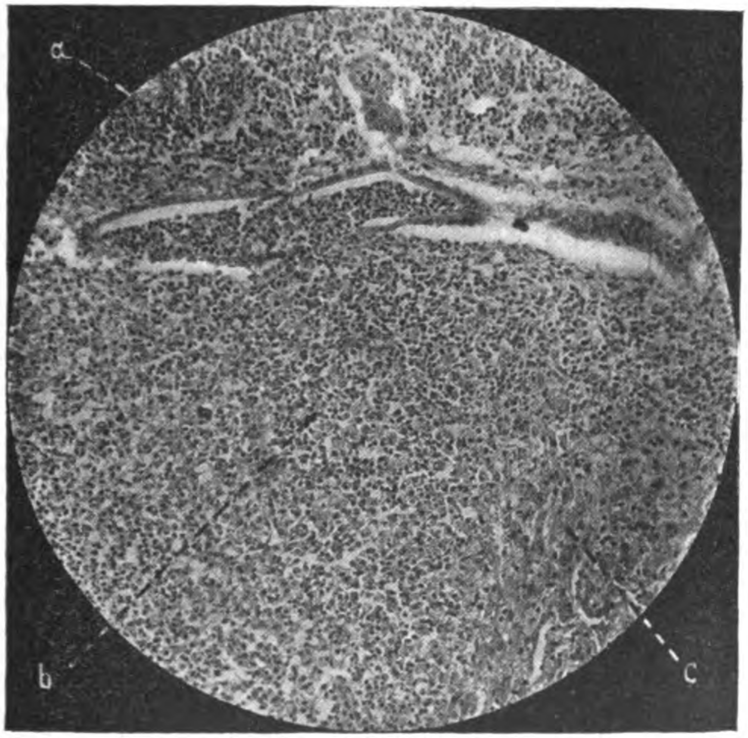


Fig. 5. Aus dem III. Falle. Leber. Mit Leukocyten gefüllter Gallengang (*a*), Leukocytäre Infiltration des Bindegewebes (*b*), Leberzellballen (*c*). Hämatoxylin-Eosinfärbung. Zeiß: apochrom. Obj. 16 mm. Projekt.-Okular 4.

Epikrise: In der Gallenblase einer Frau, die vor 7 Jahren an einem schweren rezidivierenden Bauchtyphus litt, entstand eine eiterige Entzündung. Diese Eiterung setzte sich, wahrscheinlich durch die Einkeilung eines Gallensteines im Ductus choledochus (wofür anamnestische Daten sprechen), auf die Gallengänge fort. Als Erreger der Entzündung konnten nur Typhusbazillen nachgewiesen werden.

* * *

Bevor ich die Schlußfolgerungen, die aus meinen Fällen gezogen werden können, zu besprechen beginne, möchte ich noch einiges aus meinen übrigen Typhusselektionen hier anführen, und zwar an erster Stelle über die hauptsächlich in den Monaten Januar bis März 1915 gefundenen Nierenabszesse. Diese waren meistens hirsekorngroß, doch fand ich einmal einen haselnußgroßen. Sie saßen gewöhnlich in der Rindensubstanz und waren meist mit hämorrhagischem Hofe umgeben. Der Eiter enthielt nur in einem kleineren Teil der Fälle ausschließlich Typhusbazillen, während in dem größeren Teil meistens auch andere Bakterien (Bac. coli, Staphylococcus) oder bloß nur diese nachgewiesen wurden.

Ich fand im Anschluß an Typhus auch mehrere Lungen- und Milzabszesse. Aus letzteren ließen sich ausschließlich Typhuskolonien züchten. In den Lungenabszessen befanden sich, neben anderen Bakterien, auch Typhusbazillen. Ich betrachte die Lungenabszesse nicht unbedingt als durch Typhusbazillen hervorgerufene Eiterungen; in der 3.—4. Woche (in dieser Zeit entstehen sie am häufigsten) können noch im Blute Typhusbazillen kreisen, und es ist leicht denkbar, daß sie in die Abszesse der blutreichen Lunge auch hineindringen können, wenn sie ursprünglich auch nicht die Erreger der eiterigen Entzündung waren.

In der Literatur sind schon ziemlich viele Fälle der Typhusbazilleneiterungen veröffentlicht; es wurden solche in den verschiedensten Organen beschrieben. Ich weise nur auf das Sammelreferat von W. Gaethgens in Lubarsch-Ostertags „Ergebnisse d. allg. Pathologie etc.“ hin. So berichten Laubenheimer, Williams, Windsor, Schuller, Kamm, Bitter u. a., in letzter Zeit Simonds und Oehlecker über eiterige Cholecystitiden, deren Erreger Typhusbazillen waren. Fogh, Bisselick schrieben über typhöse Osteomyelitiden, Gaillard und Chaput über Salpingitiden, Marchildon über einen Fall typhöser Spermatocystitis. Ringrose beobachtete einen typhösen, intrakraniellen Abszeß, Hollaender einen derartigen Lungenabszeß, Gáli 21 Jahre nach überstandenem Bauchtyphus einen Strumaabszeß mit Typhusbazillen im Eiter.

Es sind eine Menge von Fällen bekannt, wo die Erreger meningealer Eitermengen Typhusbazillen waren. Solche Fälle sahen Lyall Harold bei einem 5$^1/_2$ Jahre alten Knaben, Lavenson bei einer 26 Jahre alten Frau, bei der im Darme keine typhösen Veränderungen vorhanden waren, und auch die Milz normal war. Sie hatte aber angeblich vorher einen Bauchtyphus überstanden. Die Widalsche Reaktion fiel am 8. Tage ihrer Krankheit positiv aus. Der Liquor cerebrospinalis enthielt Typhusbazillen. Troisier und Sicard berichten über einen Fall von typhöser purulenter Meningitis, die in der Rekonvaleszenz entstand. Stäubli referierte über einen ähnlichen Fall. R. J. Cole sammelte aus der Literatur 14 sichere Fälle von Meningitis purulenta typhosa.

Widal und Ravant betonen, daß die Typhuseiterungen oft schon vorher kranke Organe betreffen. Sie sahen typhöse Eiterungen in einer ovarialen Cyste.

Mein oben, als 2. beschriebener Fall entstand wahrscheinlich durch Vereiterung eines duralen Blutergusses. In dieser Weise sind auch diejenigen Muskelabszesse (meistens in der Bauchmuskulatur) zu deuten, welche nach Abdominaltyphus vorkommen; ihr Ursprung liegt oft in der Vereiterung eines Hämatoms, das nach Zerreißen der wachsartig degenerierten Muskelfasern entstand. Solche Fälle wurden in letzter Zeit von Pick und Boér beobachtet. Letztgenannter sah eine Eiterung in M. gastrocnemius.

In unseren oben beschriebenen, wie auch in den aus der Literatur angeführten Fällen fanden sich in den Eiterungen bloß Typhusbazillen vor; es können also nur Typhusbazillen als Erreger dieser Eiterungen betrachtet werden. Einige Verfasser wollen trotzdem die Möglichkeit zugeben, daß die Eiterung doch von einem anderen Mikroorganismus verursacht wurde, welcher nachher zugrunde gegangen ist, so daß nunmehr bloß der Typhusbacillus zu finden ist. Dieser Erklärung gegenüber wies Muscatello auf seine Erfahrung hin, daß er eine Mischung von Staphylokokken und Typhusbazillen einem

Kaninchen subkutan injizierte und in den entstandenen Abszessen neben den Typhusbazillen die Eiterkokken immer auffinden konnte und diese sogar das Uebergewicht erreichten.

Bei Untersuchung typhöser Lungen- und Nierenabszesse fand ich oft in denselben neben zahlreichen Typhusbazillen auch viele andere Bakterien, woraus folgt, daß die Gegenwart von Typhusbazillen das Vorhandensein anderer Bakterien nicht ausschließt, und daß, im Falle die fragliche Eiterung durch die letzteren entstanden wäre, man sie auch nachweisen können müßte.

Muscatello trachtete, durch Tierexperimente den Beweis zu erbringen, daß die Typhusbazillen tatsächlich eitererregende Fähigkeit besitzen; er impfte eine gewisse Menge von Typhusbazillen Kaninchen oder Hunden subkutan ein und konnte auf diese Weise Abszesse zustande bringen; seine Versuche wurden zwar von anderen Forschern erfolglos wiederholt, doch in letzter Zeit gelang es Elli, durch intraartikuläre Injektionen von Typhusbazillen bei Kaninchen eine Eiterung hervorzurufen.

Bei den in der menschlichen Pathologie bekannten Fällen von Typhuseiterungen konnte fast immer der vorangegangene Typhus ermittelt werden, der aber oft sehr mild war. Die Zeit, welche bis zur Eiterung verlief, war manchmal sehr lang; sie betrug in Gális Falle 21 Jahre, in meinem beschriebenen 3. Falle hatte die Frau vor 7 Jahren Bauchtyphus und bekam nach dieser Zeit eine typhöse Cholecystitis. Die Länge der verstrichenen Zeit schließt nicht aus, daß die in der eiterig entzündeten Gallenblase gefundenen Typhusbazillen aus jener vor 7 Jahren stattgefundenen Infektion stammen können, da ja bekanntermaßen nach einem Bauchtyphus die Typhusbazillen oft sehr lange in der Gallenblase bleiben. Gewöhnlich verschwinden sie auch hier bald nach der Heilung des Typhus. Ich hatte Gelegenheit, bei vielen Typhussektionen die Gallenblase bakteriologisch zu untersuchen und hatte darunter einen Fall, wo aus dem Blute weder im Leben noch nach dem Tode die Typhusbazillen nachgewiesen werden konnten; doch aus der Milz erhielt ich eine reichliche Typhuskultur, während die mit dem Gallenblaseninhalte angelegten Kulturproben steril blieben. Im Dünndarme fand ich typhöse Geschwüre aus der 3. Woche; als Todesursache wurde Bronchopneumonie festgestellt. In einem anderen bakteriologisch positiven Typhusfalle konnten weder im Leichenblute noch in der Milz Typhusbazillen nachgewiesen werden; aus der Gallenblase gelang ihre Züchtung. (Der Patient wurde mit Besredkascher Vaccine subkutan behandelt; er starb an Herzschwäche.) Die Veränderungen des Dünndarmes entsprachen der 3. Woche.

Auch Zacher konnte aus der Gallenblase von typhösen Leichen oft auch in jenen Fällen Typhusbazillen züchten, in denen dies aus dem Blute und der Milz nicht gelang.

In der Gallenblase von Typhusrekonvaleszenten fand ich für gewöhnlich 7—14 Tage nach der Entfieberung nur äußerst selten die Bazillen. Wir sehen also, daß die Typhusbazillen auch aus der Gallenblase, wie aus dem Organismus überhaupt (zwar nicht so schnell wie aus dem Blute und der Milz) nach der Heilung verschwinden. Es ist schwer, zu erklären, warum sie hie und da so lange den Typhus überdauern, und man könnte vielleicht die Ursachen in der Obliteration des Ductus cysticus suchen. Ich glaube aber kaum, daß in einer abge-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

sperrten Gallenblase die Typhusbazillen sich 7 Jahre erhalten können, um so mehr, da sie hinsichtlich des Nährbodens ziemlich anspruchsvoll sind; sie gedeihen auf einem Nährboden, auf dem sie einmal gezüchtet wurden, das zweite Mal nicht, entweder weil der Nährboden während ihres ersten Wachstums erschöpft wird, oder weil von ihnen gewisse Stoffe produziert werden, welche ihre weitere Entwickelung hemmen. Daß der Ductus cysticus in mehreren ähnlichen Fällen tatsächlich nicht obliteriert war, beweist die Tatsache, daß man aus dem Stuhle dieser Rekonvaleszenten Typhusbazillen so lange züchten konnte, bis die Gallenblase operativ entfernt wurde. Es wurde weiter in solchen Gallenblasen noch lange Galle gefunden, was auch gegen eine Obliteration des Ductus cysticus spricht. Es scheint also, daß die Typhusbazillen sich auch in der strömenden Galle lange erhalten können: die Galle fließt langsam ab, während die Typhusbazillen eine ziemlich lebhafte Eigenbewegung haben. Es wurde durch Tierexperimente erwiesen, daß in die Gallenblase von Kaninchen geimpfte Typhusbazillen dort über 1 Jahr verweilen und die Tiere sogar zu Bazillenausscheidern machen können.

Ganz ähnlich scheint es sich mit der Frage der Typhusbazillenausscheidung durch den Urin zu verhalten. Ich hatte Gelegenheit, mehrere solche Leute zu beobachten, bei welchen die Kotuntersuchungen auf Typhusbazillen wiederholt negativ ausfielen; aus dem Urin hingegen konnte man durch längere Zeit massenhaft Typhusbazillen züchten. V. Entz hatte an der Beobachtungsstation in Sátoraljaújhely mehrere solche Fälle; 2 von diesen Bazillenausscheidern (J. L. und J. Sz.) urinierten Typhusbazillen monatelang fast in Reinkulturen. Bei dem ersten (J. L.) konnten während dieser ganzen Zeit auch aus dem Stuhle Typhusbazillen gezüchtet werden, beim zweiten (J. Sz.) nur 42 Tage lang. Es wurde behauptet, daß in solchen Fällen regelmäßig auch Pyelitis vorhanden wäre. In unseren Fällen war davon keine Spur. Sicher sind in einem Teile der Fälle die Typhusbazillen in der Blase und nicht in der Niere resp. im Nierenbecken. In 2 hartnäckigen Fällen von v. Entz gelang es, der Bakteriurie durch Ausspülung der Blase mit Desinfizientien ein Ende zu machen. Es sind andererseits auch solche Fälle bekannt, in denen dies nur durch Exstirpation der infizierten Niere erreicht wurde.

Wir trachteten, mit dieser Abschweifung von unserem Gegenstande den längeren Aufenthalt der Typhusbazillen im Organismus zu erklären, und kehren somit wieder zu den typhösen Eiterungen zurück.

Die oben besprochenen Fälle zeigen unbestreitbar, daß die Typhusbazillen Eiterungen tatsächlich erzeugen können, doch ist damit die Frage noch keinesfalls beantwortet, warum die Bazillen nicht immer diese Eiterung anregende Tätigkeit besitzen, und welche die Bedingungen es sind, bei denen dies ihnen zuteil wird.

Die unmittelbare Ursache einer Eiterung ist die positiv chemotaktische Wirkung der dort vorhandenen Bakterien oder Bakterienprodukte, eventuell auch anderer Stoffe, wodurch die weißen Blutkörperchen angelockt werden; diese phagozytieren dann die anlockenden Stoffe resp. Bakterien etc. Die Zellen des angehäuften Eiters sind hauptsächlich polynukleäre, neutrophile Leukocyten; sie entstammen dem Blute, wohin sie vom Knochenmark geraten. Wenn wir bei Eiterungen die Zahl der weißen Blutkörperchen im Blute bestimmen, so finden wir dieselben stets vermehrt; das Plus kommt in erster Reihe den polynukleären, neutrophilen Zellen zu, die im Verhältnis zu den mononukleären sehr stark vermehrt sind; wir können also sagen, daß die Eiterungen mit einer absoluten und relativen neutrophilen Leukocytose Hand in Hand gehen. Diese große Anhäufung der Leukocyten im Blute setzt unbedingt eine erhöhte Tätigkeit des Knochenmarkes voraus; diese Erregung des Markes stammt entweder aus dem allgemein geltenden Bestreben des Organismus, zugrunde gegangene Zellen durch neue zu ersetzen; diese Regeneration kann aber oft in eine Ueberproduktion umschlagen. Es ist aber auch möglich, daß die erwähnten pathologischen Stoffe nebenbei oder allein unmittelbar auf das Knochenmark den Reiz ausüben. Für die letztere Auffassung spricht auch der Befund, daß bei Eiterungen neben reifen Zellen auch unreife Markzellen vorhanden zu sein pflegen, deren Erscheinen allgemein als Zeichen einer Knochenmarkreizung gilt.

Wenn wir nun eine Erklärung suchen, warum die Typhusbazillen für gewöhnlich keine Eitererreger sind, so können wir die Frage mit zwei Möglichkeiten beantworten, und zwar entweder damit, daß die Typhusbazillen keine positive chemotaktische Wirkung besitzen, oder damit, daß das Knochenmark durch die Toxine der Bazillen zur Bildung von weißen Blutkörperchen nicht gereizt, ja sogar gelähmt wird.

Die erste Möglichkeit wurde lange Zeit akzeptiert; es wurde sogar von manchen Autoren (Bohland) angenommen, daß die Typhusbazillen eine negativ chemotaktische Wirkung ausüben, daß sie also die Leukocyten zu einer ganz entgegengesetzten Tätigkeit antreiben, als die exquisit eitererregenden Mikroben. Es wurde aber von Buchner hinsichtlich der Typhusbazillen, von Gabritschewsky hinsichtlich ihrer Proteine nachgewiesen, daß beide eine recht intensive, positiv chemotaktische Wirkung haben. Dies wird übrigens auch dadurch bewiesen, daß sie überhaupt Eiterung hervorrufen können, wobei die sich dort ansammelnden Leukocyten die Typhusbazillen phagozytieren, wie wir dies beim 1. Falle gesehen haben. Wir haben keinen Grund, vorauszusetzen, daß die Typhusbazillen in diesen Fällen ihre prinzipiellen biologischen Eigenschaften geändert hätten. Diese Stämme verhalten sich im Tierexperimente ebenso, wie andere; unter die Haut geimpft, entstand dort keine Eiterung; im Blute konnte Leukopenie nachgewiesen werden. Bei einem Stamme, welcher Eiterung verursachte, war recht auffallend, wie niedrig seine Virulenz war.

Gegen die Annahme einer negativen Chemotaxis spricht auch folgendes Experiment: Wenn wir einem Meerschweinchen eine Mischung von Leukocyten (gewonnen z. B. durch Aleuronatinjektion) und Typhusbazillenemulsion injizieren, so finden wir nach einer Zeit eine recht lebhafte Phagocytose, besonders bei Gegenwart von Immunsera (Pettersson).

Wenn wir nun mit diesen Erwägungen die Möglichkeit, daß die Ursache des Fehlens einer eitererregenden Wirkung des Typhusbazillus im Mangel einer positiven chemotaktischen Wirkung zu suchen sei, ausschließen, so bleibt uns zur Erklärung sowohl des Fehlens der eitererregenden Wirkung, sowie der Leukopenie nur die Voraussetzung einer Aenderung der Tätigkeit des Knochenmarkes übrig.

Um der Frage auch auf experimentativem Wege an den Leib zu rücken, untersuchen wir, wie das Knochenmark auf eine Injektion einer Typhusbazillenemulsion reagiert, das heißt, wie sich danach das Blutbild verändert. Sehr gut können wir zu diesem Zwecke die Leukocytenzahlbestimmungen nach prophylaktischer Schutzimpfung benützen. Diese Veränderungen des Blutes entsprechen, wie allgemein angenommen wird (Ziersch, Stieve u. a.), dem Blutbilde bei einer natürlichen Abdominaltyphusinfektion.

Schneider, Lipp und andere Autoren haben gefunden, daß sofort nach der Injektion eine mäßige Leukocytose entsteht, die ungefähr 24 Stunden lang dauert. Nachher beginnt die Zahl der Leukocyten sich zu vermindern, so daß wir am 5.—6. Tage nur noch 4—5000 finden. Bestimmen wir jetzt die Verhältniszahl der myeloiden und lymphoiden Elemente, so zeigt sich eine relative Lymphocytose. Danach fängt das Blutbild an, sich langsam dem Normalen zu nähern, erreicht es aber erst nach 1—1$^1/_2$ Monat.

Wir bekommen also tatsächlich ein dem Blutbilde des Bauchtyphus vollkommen ähnliches Bild. Beim Abdominaltyphus besteht auch am 2. bis 3. Krankheitstage eine mäßige Leukocytose (Reichmann), tags darauf sinkt aber die Zahl der Leukocyten beträchtlich, so daß in der 2. Woche, wo das Fieber schon den Typus Febris continua zeigt, die Leukocyten schon unter 4000 sinken. Diese Zahl kann aber noch niedriger werden, sogar unter 2000, und steigt nur nach der Entfieberung (5. Woche) schnell auf die normale Höhe. Ihre Zahl kann in der 4. Woche unter die Zahl der Lymphocyten sinken. Die eosinophil granulierten Leukocyten (welche ebenfalls durch das Knochenmark produziert werden) fehlen in dem Blute vom 4. Tage an.

Analysieren wir das Blutbild, so müssen wir die Leukocytose, welche bald nach der Impfung entsteht, ebenso wie auch jene im Anfange der Krankheit als eine etwa reflektorisch sich äußernde Abwehr gegen einen hineindringenden, fremden Stoff auffassen. Zu dieser Zeit haben die Proteine der Typhusbazillen das Knochenmark schon erreicht und dasselbe gereizt; dieser Irritation aber folgt bald die Lähmung der leukopoëtischen Tätigkeit des Knochenmarkes. Das Mark kann jetzt die zugrunde gehenden Leukocyten nicht mehr durch neue ersetzen, und so entsteht die Leukopenie. Diese Typhusbazillen üben aber auf die Bildungsstätten der Lymphocyten keinen lähmenden Einfluß aus; die Zahl derselben erfährt keine Verminderung, und so entsteht eine relative Lymphocytose. Naegeli fand bei histologischen Untersuchungen des Knochenmarkes in diesem Stadium der Leukopenie darin hauptsächlich Myeloblasten, die Zahl der Myelocyten und noch mehr der Leukocyten war sehr gering. Nach seiner Meinung hat sich die Fähigkeit des Markes, die Myeloblasten in weitere, reife Formen umzuwandeln, verringert.

Zur Entscheidung der Frage, ob während des Bauchtyphus tatsächlich eine solche Lähmung des Markes vorhanden ist, lieferten die Experimente E. Bauers interessante Belege. Er untersuchte, ob bei septischen Krankheiten eine künstlich hervorgerufene Abszeßbildung mildernd auf die Krankheit einwirke. Seine Experimente gingen auf die Kontrolle der altbekannten und jetzt durch Fochier wieder aufgefrischten Erfahrung aus, daß bei stark virulenten, septischen Erkrankungen im Organismus keine lokalen Abszeßbildungen entstehen; aus diesem Grunde trachtete Fochier, einen Abszeß zu erzeugen, wo sich die Infektion gewissermaßen bindet, sich erschöpft und so ihre Wirkung auf den Gesamtorganismus abschwächt. Bauer injizierte während seiner Versuche verschiedenen Kranken Terpentin subkutan. Bei den meisten entstand nach 4—6 Tagen an der Injektionsstelle ein Abszeß mit 30—60 ccm dickflüssigem Eiter. Bei einem Typhuskranken entstand überhaupt kein Abszeß, bei einem anderen entwickelte sich nur nach längerer Zeit, als er schon entfiebert war, nach der 4. Krankheitswoche ein ganz kleiner Eitercherd.

Bei denselben Kranken untersuchte Bauer auch das Blut; er fand, daß, während bei anderen Krankheiten, wo auf die Terpentininjektion Abszesse entstanden, auch im Blute sich die Leukocyten vermehrten, dies beim Typhus nicht der Fall war.

Alle diese Beobachtungen können nur mit der Annahme erklärt werden, daß die Bildungsstätte der Leukocyten (das Knochenmark) gelähmt wurde, und deshalb von der Terpentininjektion weder lokale Eiterung noch allgemeine Leukocytose ausgelöst werden konnte.

Rieder, Halla, Türk, Bauer und andere konnten im Blute von Typhuskranken auch da keine Leukocytose finden, wo sich zum Bauchtyphus entzündliche Komplikationen hinzugesellten. Dagegen beobachteten v. Jaksch und Grawitz Fälle, in denen, trotz des vorhandenen Bauchtyphus, die sich inzwischen entwickelnde Pneumonie von ausgesprochener Leukocytose begleitet wurde. Und so geben die diesbezüglichen Beobachtungen verschiedener Autoren keinesfalls übereinstimmende Resultate; ja mehrere Autoren haben sogar bei Bauchtyphusfällen Leukocytose entstehen sehen; diese war aber, der Zahl der Leukocyten nach, fast stets mäßigen Grades. Auch wird von den Autoren nicht immer angegeben, wie viele von den vermehrten weißen Blutkörperchen den Leukocyten angehören.

Und selbst diese widersprechenden Beobachtungen können nicht als Beweise gegen die durch uns angenommene Theorie angeführt werden; man kann nämlich annehmen, daß das Knochenmark, dessen Tätigkeit durch die schädlichen Substanzen der Typhusbazillen aufgehoben wurde, durch neue starke Knochenmarkreize (und als solche sind z. B. die eitererregenden Kokken zu betrachten) wieder in die Lage versetzt wird, Leukocyten zu bilden (Grawitz). Zwei entgegengesetzte Faktoren wirken hier auf das Knochenmark ein; welcher von den beiden intensiver wirkt, derjenige wird die Richtung der Knochenmarktätigkeit bestimmen. Es macht sich dies auf solche Weise geltend, daß bei schweren Typhusfällen sich auch dann keine Leukocytose entwickelt, wenn zur Krankheit noch eine Bronchopneumonie sich hinzugesellt (Kast und Gütig), während bei weniger schweren Fällen dies manchmal vorkommt. Nach Mayer und anderen kann bei einem schweren Typhusfalle eine Perforationsperitonitis entstehen, ohne daß hierdurch das typhöse Blutbild eine Aenderung erfährt, so daß die Leukopenie weiter fortdauert.

Interessant ist noch die Mitteilung von Grawitz, der bei einer gemischtzelligen Leukämie die Zahl der Leukocyten beim Auftreten eines

Typhus abdominalis beinahe zur normalen Höhe herabsinken sah; nach der Entfieberung trat wieder das leukämische Bild auf.

Früher habe ich schon erwähnt, daß die Leukopenie gleichzeitig mit dem Herabsinken der Temperatur verschwindet. Wir würden auch nach dem Gesagten glauben, daß die Ursache dieser Koinzidenz darin liegt, daß zu dieser Zeit sämtliche Typhusbazillen vernichtet werden, und deshalb die Lähmung des Markes aufhört. Die echten typhösen Eiterungen sind von dieser Zeit an am häufigsten.

Wir haben oben schon einmal die Beobachtungen von Bauer erwähnt, nach denen auf Terpentininjektionen bei Typhuskranken der Abszeß nur nach Schwinden des Fiebers entstand. Er erhielt also bei Typhuskranken keinen Abszeß; als aber der Kranke das Fieber verlor, fing die Injektionsstelle an, schmerzhaft zu werden; bald ließ sich eine deutliche Fluktuation bemerken, und es entstand ein kleiner Abszeß.

Ich halte an dieser Stelle unsere folgenden Beobachtungen wohl für angebracht: Bei Typhuskranken, die therapeutische Injektionen mit sensibilisierter Besredka-Vaccine erhielten, blieben an der Injektionsstelle kleine Knötchen zurück. Als der Kranke schon vollkommen fieberfrei wurde, kam es in einigen Fällen ganz unerwartet vor, daß diese scheinbar vollkommen inaktiven Knötchen vereiterten. Am häufigsten konnten wir dies nach jenen Injektionen beobachten, bei welchen sensibilisierte, aber mit Karbolsäure abgetötete Typhusbazillen verabfolgt wurden. Diese Abszesse, die in der Mehrzahl der Fälle in der Rekonvaleszenz entstanden, wurden bei der bakteriologischen Untersuchung stets steril gefunden. Es kann bei diesem Punkte der Einwand gemacht werden, warum in Anschlusse an prophylaktische Impfungen niemals Eiterungen an der Injektionsstelle auftreten, vorausgesetzt, daß an der Injektionsstelle keine sekundäre Infektion entsteht.

Die Frage kann leicht beantwortet werden, wenn wir auf das, was wir oben schon gesagt haben, noch einmal zurückgreifen: daß nämlich die Zahl der weißen Blutkörperchen im kreisenden Blute und die Eiterungen in einer strengen Beziehung zueinander stehen, und daß weiter die spezifischen typhösen Eiterungen fast ausschließlich nur zu jener Zeit entstehen, wo die Leukopenie schon aufhörte.

Vergleichen wir die Blutbilder nach therapeutischen und prophylaktischen Impfungen, so ergibt sich folgendes: Nach der prophylaktischen Impfung besteht längere Zeit (1—2 Monate) eine Leukopenie; nach der therapeutischen Vaccination jedoch ist dieselbe von kurzer Dauer, und zwar, wenn die Injektion intravenös geschieht, 6—7 Stunden nach dem Schüttelfroste (Holler); wenn aber der Impfstoff subkutan mehrere Tage nacheinander in steigenden Dosen dargereicht wird, hört die Leukopenie bald nach der letzten Impfung auf (Szécsy, Johan). Worin eigentlich die Ursache dieses Unterschiedes liegt, zu erklären, wäre heute, wo wir über die heilende Wirkung dieser Impfungen noch nicht orientiert sind, sehr schwer. Es wird von der einen Seite behauptet, daß durch die therapeutische Impfung im kranken Organismus die Antitoxine plötzlich mobilisiert werden (Rohonyi), andererseits wird auf ein eigentümliches, vielleicht nicht einmal spezifisches, refraktäres Verhalten des Organismus gefolgert (Gröer). Beide Theorien entbehren aber der entsprechenden experimentellen Beweise.

Auf Grund der gemachten Erwägungen kann aus dem Verschwinden der Leukopenie auf das Aufhören der Knochenmarklähmung geschlossen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

werden; wir können aber auch sagen, daß das Knochenmark nach einer prophylaktischen Impfung eine längere, nach einer therapeutischen eine kürzere Zeit beansprucht, um seine Fähigkeit, Leukocyten zu bilden und dieselben ins Blut überzuführen, wieder zurückzubekommen. Es ist auch leicht zu verstehen, daß, wenn nach einer Impfung die Lähmung des Knochenmarkes bald aufhört, an der Injektionsstelle um die positiv chemotaktisch wirkenden Typhusbazillen herum, wenn diese von dort nicht genügend schnell fortgeschafft werden, sich massenhaft Leukocyten ansammeln können. Die sensibilisierten Typhusbazillen verschwinden sehr schnell von der Injektionsstelle, besonders wenn sie lebend dargereicht wurden; sensibilisierte, aber abgetötete Bazillen nehmen bis zu ihrem Verschwinden eine längere Zeit in Anspruch. Hierin vermute ich die Ursache, daß wir bei den letzteren häufiger Eiterungen gefunden haben. Anders verhält es sich mit den prophylaktischen Impfungen: hier besteht die Lähmung des Knochenmarkes durch eine lange Zeit, während dieser konnten die der Phagocytose schwerer zum Opfer fallenden, abgetöteten Typhusbazillen von der Impfstelle auch schon fortgeschafft werden, so daß zur Zeit, wo die Lähmung des Markes aufhört und die normale Tätigkeit desselben sich wieder einstellt (1—2 Monate), an der Injektionsstelle schon keine Typhusbazillen mehr vorhanden sind.

Alle diese angeführten Beobachtungen und Erwägungen zusammen verhelfen uns zur Erklärung der typhösen Eiterungen; in erster Reihe wird uns dadurch verständlich, warum die Typhusbazillen in der Regel keine eiterigen Entzündungen verursachen. Die Ursache ist klar: es wird durch die Typhusbazillen die Leukocyten erzeugende Tätigkeit des Knochenmarkes gelähmt, wofür die vorhandene Leukopenie spricht. Die verhältnismäßig verminderte Zahl der Leukocyten, die vom Marke ins Blut gelangt, besitzt vielleicht dabei nicht einmal die normale Beschaffenheit, namentlich ist ihre phagocytierende Fähigkeit herabgesetzt und besitzt wahrscheinlich chemotaktischen Reizen gegenüber verminderte Reaktionsfähigkeit. Gegen Ende der Krankheit werden gewöhnlich sämtliche Typhusbazillen vernichtet; dies bedeutet ja eben den Abschluß des Krankheitsprozesses, das Aufhören des Fiebers und der Leukopenie. Die Virulenz der an einzelnen Stellen des Organismus eventuell zurückgebliebenen Typhusbazillen wird durch die erzeugten Immunkörper stark herabgesetzt; ihre Toxine wirken schon aus diesem Grunde nicht mehr lähmend auf das Knochenmark, und es werden wieder durch das normal gewordene Mark vollwertige, reaktionsfähige Leukocyten erzeugt. Die Bazillen wirken nunmehr auf diese Leukocyten chemotaktisch, und so kann in ihrer Umgebung wieder Eiterung entstehen. Diese Bazillen unterscheiden sich aber in ihren experimentell demonstrierbaren kardinalen Eigenschaften keineswegs von anderen Typhusstämmen, höchstens, wie das von anderen Autoren und auch von mir gefunden wurde, daß ihre Virulenz herabgesetzt ist. Sie haben aber ihre Fähigkeit, Abdominaltyphus hervorzurufen, behalten; wenn sie nämlich einen anderen, gesunden Organismus infizieren, so werden sie dort keine Eiterung, sondern wieder einen typischen Bauchtyphus hervorrufen. Dafür spricht auch die Mitteilung von Balp; er obduzierte ein Kind, das an Meningitis purulenta typhosa starb. Er mußte sich dabei infiziert haben, da er und der ihm assistierende Arzt an einem typischen Bauchtyphus erkrankten; auch der Leichendiener war durch eine längere Zeit fieberhaft.

Aus alldem läßt sich nun mit Sicherheit behaupten, daß **die eitererzeugende Fähigkeit nicht etwa einem gewissen Typhusstamme eigen ist. Die Ursache der Typhuseiterungen ist vielmehr im Zusammenwirken zweier Faktoren zu suchen: in dem gewissermaßen veränderten Verhalten sowohl des angegriffenen Organismus, als auch der beteiligten Typhusbazillen.** Worin diese Veränderung besteht, muß einstweilen dahingestellt bleiben. Mit den heute zur Verfügung stehenden Untersuchungsmethoden können wir bezüglich der Typhusbazillen bloß die Abnahme ihrer Virulenz, in bezug auf den Organismus das Erscheinen von Immunkörpern als solche Faktoren nachweisen, in denen sie von anderen Typhusstämmen, resp. von dem gesunden, zu Typhuseiterungen nicht inklinierenden Organismus sich unterscheiden.

Literatur.

Lubarsch-Ostertag, Ergebn. d. allg. Pathol. Bd. 16 (Lit.).
Tictine, Centralbl. f. path. Anat. Bd. 5. S. 884.
Cole, Ebenda. Bd. 16. S. 668.
Lyall, Ebenda. Bd. 25. S. 107.
Lavenson, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 43. S. 211.
Troisier et Sicard, Centralbl. f. path. Anat. Bd. 9. S. 731.
Chantemesse et Widal, Ebenda. Bd. 5. S. 1011.
Widal et Ravaut, Ebenda. Bd. 14. S. 767.
Stäubli, Ebenda. Bd. 16. S. 276.
Muscatello, Ebenda. Bd. 2. S. 239.
Balp, Ebenda. Bd. 2. S. 241.
Bauer, E., Virchows Arch. Bd. 156. S. 529.
Kast u. Gütig, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 80. S. 105.
Grawitz, Klinische Pathologie des Blutes.
Türk, Klinische Hämatologie.
Naegeli, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 67. S. 279.
Meyer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 45. S. 230.
Rohonyi, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 83. H. 1/2. S. 60.
Holler, Ebenda. Bd. 81.
v. Gröer, München. med. Wochenschr. 1915. S. 1312.
Reichmann, Ebenda. 1916. S. 704.
Schneider, Deutsch. med. Wochenschr. 1915. S. 393.
Lipp, München. med. Wochenschr. 1915. S. 539.
Ziersch, Ebenda. S. 1310.
Pettersson, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. S. 537.
Bohland, Centralbl. f. inn. Med. 1899; zit. Naegeli.
Stieve, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 117; zit. Reichmann.
Krehl-Marchand, Allgemeine Pathologie.
Zacher, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 49. S. 401.
Pick, Ref. Deutsch. med. Wochenschr. 1915. S. 569.

(G. C.)

Nachdruck verboten.

Ueber Influenzameningitis.

[Aus dem allgemeinen Krankenhaus Hamburg-Eppendorf].

Von **Dr. Alexander Lorey.**

Hirnhautentzündungen treten im Verlauf von mancherlei Infektionen sekundär auf; aber auch die primären Hirnhautentzündungen werden nicht immer von demselben Erreger hervorgerufen. Am häufigsten findet man wohl Meningokokken und Pneumokokken.

Es sei mir gestattet, im Folgenden über einen Fall von Hirnhautentzündung zu berichten, der durch einen selten gefundenen Keim verursacht wurde, zumal da der Verlauf einige Besonderheiten bietet.

Es handelt sich um eine 49jährige Dame, die früher niemals ernstlich krank gewesen ist. Lungenkrankheiten sind in der Familie der Patientin nicht vorhanden, auch ist in ihrer Umgebung kein Fall von Keuchhusten vorgekommen. Die jetzige Erkrankung begann 3 Tage vor der Krankenhausaufnahme urplötzlich aus vollstem Wohlbefinden heraus mit Schüttelfrost, Erbrechen, sehr starken Kopfschmerzen und Schmerzen im Nacken. Husten, Schnupfen oder Halsentzündung waren nicht vorhanden. Bei der Aufnahme am 23. August 1916 konnte folgender Befund erhoben werden: Ziemlich große, mittelkräftig gebaute Pat. in ausreichendem Ernährungszustande. Das Sensorium ist nicht eigentlich benommen, jedoch macht Pat. einen apathischen, leicht somnolenten Eindruck, wie wir es häufig bei tuberkulöser Meningitis im Beginn finden. Herpes ist nicht vorhanden. Die Pupillen reagieren auf Lichteinfall und Konvergenz. Patellar- und Achillessehnenreflexe sind schwer auszulösen, Babinski negativ. Das Kernigsche Symptom ist vorhanden. Es besteht ausgesprochene Nackensteifigkeit, die Berührung des Nackens ist sehr schmerzhaft; ferner ist allgemeine Hyperästhesie vorhanden. Die Ohren zeigen regelrechten Befund; katarrhalische Erscheinungen in Nase und Rachen sind nicht vorhanden. Die Zunge ist feucht, kaum belegt; die Rachenorgane nicht gerötet. Lungen und Herz zeigen vollkommen regelrechten Befund.

Das Abdomen ist weich, die Milz nicht zu fühlen; die Leber ist nicht vergrößert. Der Urin enthält leichte Eiweißtrübung; Diazoreaktion negativ. Die Lumbalflüssigkeit ist klar, der Druck beträgt 250 mm Hg. Pandy +. Beim Stehen setzt sich kein Netz ab. Im Ausstrich und durch Kultur wurden ganz feine Stäbchen gefunden, die weiter unten des näheren beschrieben sind. Eine Blutentnahme bleibt steril. Das Blut agglutiniert die aus der Lumbalflüssigkeit gezüchteten Keime nicht.

25. August. Dauernd hohe Continua, Sensorium nicht getrübt, Pat. ist klar. Meningitische Erscheinungen: Nackensteifigkeit, Schmerzhaftigkeit des Nackens, Kernigsches Symptom und allgemeine Hyperästhesie unverändert. An den übrigen Organen ist der Befund ein vollkommen negativer. Erneute Lumbalpunktion ergibt dasselbe Resultat wie vor 2 Tagen.

26. August. Pat. ist etwas dösig, jedoch nicht eigentlich benommen. Meningitische Erscheinungen unverändert; Organbefund im übrigen ebenfalls negativ. Leukocyten 13000.

29. August. In den letzten 3 Tagen wegen Harnverhaltung Katheterismus erforderlich. Temperatur etwas niedriger, um 39 Grad; im übrigen derselbe Befund. Lumbalpunktion ergibt dasselbe Resultat wie früher.

1. Sept. Temperatur ist weiter abgefallen; Urin wird wieder spontan entleert. Allgemeinbefinden, namentlich Kopfschmerzen sind etwas besser, die übrigen meningitischen Symptome bestehen noch. Erneute Lumbalpunktion mit demselben Ergebnis wie früher. Heute erneute Blutentnahme; Agglutination mit dem aus der Lumbalflüssigkeit gezüchteten Stamme ist 1 zu 20 positiv.

5. Sept. Noch unregelmäßige Temperaturen, die aber nicht über 38° ansteigen. Das Sensorium ist vollkommen klar. Es besteht noch ausgesprochene Nackensteifigkeit und Schmerzen beim Berühren des Nackens; Kernigsches Symptom und die allgemeine Hyperästhesie ist bedeutend geringer geworden. Abermalige Lumbalpunktion mit demselben Resultat wie früher.

9. Sept. Allgemeinbefinden hat sich weiter gebessert. Klagen über leichte Parästhesie im linken Arm; Nackensteifigkeit ist geringer geworden, aber noch nicht ganz verschwunden. Erneute Lumbalpunktion, in der heute zum erstenmal weder im Ausstrich noch in der Kultur Keime nachgewiesen werden.

12. Sept. Die Kranke ist in den letzten Tagen fieberfrei gewesen, die Nackensteifigkeit ist geschwunden, nur die rechte Nackenmuskulatur ist empfindlich. Das Kernigsche Phänomen ist ebenfalls nicht mehr vorhanden.

20. Sept. Keine meningitischen Symptome mehr, nur noch ganz geringe Druckempfindlichkeit der rechten Nackenmuskulatur. Pat. klagt in der letzten Zeit über Brennen beim Wasserlassen. Der Urin ist trübe, enthält mikroskopisch Leukocyten und Bakterien. Die Kultur ergibt Bacterium coli commune. Behandlung: Lindenblütentee. Die etwas unregelmäßig erhöhten Temperaturen in den letzten Tagen sind wohl auf die Urininfektion zu beziehen.

23. Sept. Allgemeinbefinden gut; Nackensteifigkeit und andere meningitische Symptome nicht mehr vorhanden; sie hat nur noch ein leicht dumpfes Gefühl im Kopfe, etwa so, als wenn sie eine Haube auf dem Kopfe hätte.

30. Sept. Allgemeinbefinden gut, nur noch Klagen über mäßiges Brennen beim Wasserlassen.

16. Nov. Die Kranke ist seit längerer Zeit den ganzen Tag außer Bett und fieberfrei; Beschwerden sind nicht mehr vorhanden. Auch beim Wasserlassen kein Brennen mehr. Der Urin ist jetzt klar und steril. An den Organen und dem Nervensystem kein krankhafter Befund. Die Kranke hat sich ausgezeichnet erholt, sieht blühend aus und kann heute als geheilt entlassen werden.

Die Untersuchung der Lumbalflüssigkeit, die auszuführen Herr Dr. Plaut die Liebenswürdigkeit hatte, ergab stets den gleichen Befund. Die Flüssigkeit sah vollkommen klar aus, beim Stehen setzte sich kein Netz ab, Die Pandy-Reaktion war positiv. Beim scharfen Auszentrifugieren setzte sich ein wenig Sediment ab. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigt sich in demselben ein vermehrter Zellgehalt, und zwar waren bei weitem in der Mehrzahl Lymphocyten vorhanden und nur spärliche Leukocyten. Färbte man den Ausstrich, so konnte man ziemlich zahlreiche kleinste, feinste, an den Ecken abgerundete Stäbchen nachweisen, die häufig zu zweit hintereinander lagen, so daß im ersten Augenblick die Unterscheidung von Diplokokken schwierig war. Diese Stäbchen lagen alle extracellulär und entfärbten sich nach Gram. Bei der Kultur zeigte es sich, daß nur auf Blutplatten Kolonien wuchsen, während sämtliche hämoglobinfreien Nährböden absolut steril blieben. Auf den Blutplatten entwickelten sich ganz zarte, feine, durchsichtige, Tautropfen ähnliche Kolonien, die auch beim Aelterwerden stets dasselbe zarte Aussehen und Durchsichtigkeit behielten und den Blutstoff nicht veränderten. Bei der mikroskopischen Betrachtung zeigten diese Kolonien eine vollkommen glatte Oberfläche, ohne jede Spur von Körnelung. Ein Ausstrich vom Präparat von dieser Kultur ließ uns wieder dasselbe zarte, feine, an den Ecken abgerundete, meist zu zweit hintereinander liegende, gramnegative Stäbchen erkennen, wie wir es schon in dem Sediment der Lumbalflüssigkeit gesehen hatten. Eine mit dieser Kultur intraperitoneal geimpfte Maus blieb am Leben. Das morphologische Aussehen der Stäbchen sowie die Art des Wachstums nur auf hämoglobinhaltigen Nährböden erweckte natürlich sofort den Verdacht, daß wir es mit Pfeifferschen Influenzabazillen zu tun hätten; jedoch bei weiterer Fortzüchtung des gefundenen Keimes stellte es sich heraus, daß derselbe etwa von der 5. bis 6. Generation ab, erst schlecht, dann immer besser, auch auf hämoglobinfreien Nährböden, auf Glyzerinagar und in Peptonbouillon zum Wachstum zu bringen war. Trotz des zuletzt leidlich üppigen Wachstums war unser Stamm sehr wenig widerstandsfähig. 2- bis 3-tägiges Stehen bei Zimmertemperatur genügte, um ihn zum Absterben zu bringen. Es konnte sich daher nicht um einen echten Pfeifferschen Influenzabacillus handeln.

Es sind in der Literatur eine Reihe von influenzaähnlichen Bazillen beschrieben worden.

Jochmann und Krause (1) fanden im Sputum von keuchhustenkranken Kindern ein Stäbchen, welches sich nach ihrer Beschreibung morphologisch und kulturell nicht vom Influenzabacillus unterscheiden läßt und welches sie für den Erreger des Keuchhustens hielten; sie nannten diesen Keim „Bacillus pertussis Eppendorf“ Jochmann gab späterhin die Identität dieses Bacillus mit dem Influenzabacillus zu. Untersuchungen von Odaira (2), der bei einigen keuchhustenkranken Kindern Bazillen aus dem Sputum züchten konnte, die sich kulturell und morphologisch nicht von den Influenzabazillen unterschieden, und fand, daß die aus diesem Stamme, sowie aus einem echten Pfeifferschen Bacillus gewonnenen Immunsera beide Stämme in Agglutination und Komplementbindungsvermögen gleichmäßig beeinflußten, sprachen zugunsten der Identität der Influenza- und Keuchhustenbazillen. Neben diesen, als Erreger des Keuchhustens angenommenen Stäbchen fanden Jochmann und Krause noch 2 Abarten, die sich dadurch unterschieden, daß sie auch auf hämoglobinfreien Nährböden wuchsen, von denen die eine Abart gramnegativ, die andere grampositiv war; im übrigen verhielten sie sich genau wie die Influenzabazillen. Eine ätiologische Bedeutung derselben für die Entstehung des Keuchhustens wird von Jochmann und Krause abgelehnt.

Cohen (3) konnte im Jahre 1909 bei 3 Fällen von Septikämie mit eitriger Meningitis ein kulturell und morphologisch von den Influenzabazillen nicht zu unterscheidendes Stäbchen, sowohl aus den Meningen wie aus allen Eiterherden in Reinkultur finden (Bacillus meningitidis cerebro-spinalis septicaemicae Cohen). Es unterschied sich von den echten Influenzabazillen hauptsächlich dadurch, daß es im Tierversuch nicht nur toxisch wie Influenzabazillen wirkte, sondern eine regelrechte Infektion mit Bakteriämie, fibrinös-eitriger Peritonitis, Pleuritis, Pericarditis, Bronchopneumonien, Hyperämie der Meningen und hämorrhagische Verfärbung der Cerebrospinalisflüssigkeit hervorrief. Es ist demnach wahrscheinlich, daß die von Cohen gefundenen Bazillen von den echten Influenzabazillen nicht zu trennen sind, und wir müssen Scheller zustimmen, wenn er fordert, daß in diesem Falle sämtliche Iufluenza-Meningitisbefunde, sowie die Befunde von Influenzabazillen bei septikämischen Prozessen, die von früheren Autoren beschrieben, einer Revision bedürftig sind.

Zu erwähnen wäre noch der Koch-Weekssche Bacillus (4), den er in der Bindehaut bei Conjunctivitiden fand. Er zeigt dasselbe Aussehen wie die Influenzabazillen, gedeiht jedoch auch auf Ascites-, Hydrocelen- und Serumagar ohne Zusatz von Hämoglobin. Die Kolonien sollen sich früher entwickeln als die der Influenzabazillen und bei mikroskopischer Betrachtung ein leicht gekörntes Aussehen aufweisen.

In Frage käme ferner noch der von Bordet und Gengou (5) im Jahre 1906 gezüchtete Keuchhustenbacillus. Diese Stäbchen, die etwas größer und plumper sein sollen als Influenzabazillen und im Auswurf von keuchhustenkranken Kindern zunächst extracellulär, im weiteren Verlaufe intracellulär gefunden werden, wachsen zunächst nur auf hämoglobinhaltigen Nährböden; nach längerer Umzüchtung gelingt es aber, den Stamm auch auf hämoglobinfreien Nährböden üppig zum Wachstum zu bringen. Das Wachstum der Keuchhustenbazillen geht langsamer von statten, als das von Influenzabazillen, die Kulturen werden aber üppiger. Die Keuchhustenbazillen sollen den Blutfarbstoff der Nährböden etwas hämolysieren. Während die Kolonien des Influenzabacillus bläulich und durchsichtig sind und auch bei längerer Bebrütung bleiben, sollen die Kolonien des Keuchhustenbacillus weißer und dicker werden.

Das von uns gefundene Stäbchen glich morphologisch und im Aussehen der Kulturen vollkommen den Influenzabazillen; da es jedoch bei weiterer Fortzüchtung gelang, dasselbe auch auf hämoglobinfreien Nährböden zum Wachstum zu bringen, kann es kein echter Influenzabacillus gewesen sein, denn letzterer bleibt stets absolut hämoglobinophil. Auch mit der Beschreibung des Bordet-Gengouschen Keuchhustenbazillus stimmt unser Keim nicht vollkommen überein. Bei ersterem, der bei längerer Umzüchtung auch auf hämoglobinfreien Nährböden wachsen soll, werden die Kolonien dicker und weißer als beim Influenzabacillus, auch sollen sie hämolytisch sein, während die Kolonien unseres Keimes stets ganz zart und durchsichtig blieben und jede Spur von Hämolyse vermissen lassen. Der Cohensche Bazillus ruft beim Tierversuch eine Sepsis hervor, während unser Keim, wie Influenzabazillen, nur toxisch wirkte. Allerdings haben wir nur eine Maus infizieren können; an einem weiteren Versuche hinderte uns das Absterben unseres Keimes.

Es läßt sich also der von uns gefundene Keim mit keiner der bisher beschriebenen Arten vollkommen identifizieren; am nächsten steht er dem echten Influenzabacillus, von dem er sich lediglich dadurch unterscheidet, daß er bei längerer Fortzüchtung auch auf hämoglobinfreien Nährböden zum Wachstum zu bringen ist. Leider hinderte uns das frühzeitige Absterben des Stammes daran, weitere Untersuchungen anzustellen, namentlich zu prüfen, ob ein mit einem echten Pfeifferschen Influenzabazillenstamm hergestelltes Immunserum unseren Stamm agglutiniert und umgekehrt. So bedauerlich das Fehlen dieser Untersuchung ist, so dürfen wir doch wohl behaupten, daß wir es mit einer Spielart des Influenzabacillus zu tun haben.

Erkrankungen der Hirnhäute bei Influenza sind des öfteren in der Literatur beschrieben. Viele der veröffentlichten Fälle können jedoch einer strengen Kritik nicht standhalten, denn es fehlt in vielen Fällen der kulturelle Nachweis der Erreger in den Meningen, oder es finden sich neben den Influenzabazillen noch andere Keime; es lag also eine Mischinfektion vor. Es kann nur Verwirrung stiften, wenn Leichtenstern (6) schreibt: „Im meningealen Eiter sind bisher nur die gewöhnlichen Eiterkokken, inkl. des ubiquitären Diplococcus lanceolatus, von Pfuhl und Högerstedt aber auch die spezifischen Influenzabazillen gefunden worden", und kurz darauf anführt: „selbstverständlich stempelt der Nachweis der spezifischen Influenzabazillen im Sputum solcher Kranken auch die betreffende Meningitis zu einer grippalen." Wir müssen unbedingt fordern, daß nur der Nachweis der spezifischen Erreger in den erkrankten Geweben uns gestattet, die Krankheit als durch den betreffenden Erreger hervorgerufen anzusehen. Dieser Nachweis ist bei der Meningitis schon zu Lebzeiten unschwer durch die bakteriologische Untersuchung der durch Lumbalpunktion gewonnenen Meningealflüssigkeit zu erbringen. Finden wir neben Influenzabazillen noch andere Keime, so können wir nicht beurteilen, welchem von diesen Keimen die ausschlaggebende Bedeutung für das Entstehen der Erkrankung zukommt. Wir haben es dann eben mit einer Mischinfektion zu tun und können nicht schlechthin von einer Influenzameningitis sprechen.

Als erster hatte Nauwerck (7) bei einem unter Hirnerscheinungen tödlich verlaufenden Fall von Influenza bei der Obduktion aus einem apoplektiformen Herde des Kleinhirns und aus der Ventrikelflüssigkeit Influenzabazillen gezüchtet. Des weiteren konnte Fraenkel (8) bei 2 Kindern im meningealen Eiter und im eitrigen Exsudat an der Hinterfläche des Rückenmarks Influenzabazillen in Reinkultur nachweisen. Ueber positive Influenzabazillenbefunde bei Meningitis berichten ferner noch Jundell (9), Trailescu (10), Slawyk (11), Saathoff (12), Langer (13), Ghon (14), Cattaneo (15), Douglas (16), Longo (17), Ritchie (18), Haedke (19), Meumer (20), Peucker (21), Hecht (22) und kürzlich Gaehtgens (23). Letzterer berichtet über 2 Fälle, von denen der eine als eine sichere Influenzameningitis anzusehen ist. Der andere Fall lieferte kein so eindeutiges Resultat. Denn es trat im weiteren Verlauf eine Mischinfektion mit Pneumokokken hinzu, des weiteren wichen die gezüchteten Keime insofern von echten

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Influenzabazillen ab, als sie auch in Peptonbouillon ein, wenn auch schwaches, Wachstum zeigten. Gaehtgens neigt der Ueberzeugung zu, daß es sich um Keuchhustenbazillen gehandelt habe, zumal das betreffende Kind schon seit Wochen an Keuchhusten litt. Auch in diesem Falle wurde ein weiterer Versuch durch das frühzeitige Absterben des Keimes verhindert. Ich halte es für wahrscheinlich, daß der von Gaehtgens gefundene Stamm mit unserem identisch ist.

Die bisher in der Literatur beschriebenen Fälle von Influenzameningitis sind in der bei weitem überwiegenden Mehrzahl bei Kindern aufgetreten; sie sind alle tödlich verlaufen und zeigten, soweit ich es übersehen kann, einen eitrigen Charakter. Dagegen ist in unserem Fall, der einen Erwachsenen betraf, bemerkenswert, daß der Liquor stets klar war und mikroskopisch eine nicht sehr bedeutende Zellenvermehrung, darunter nur sehr spärliche Leukocyten, enthielt. Der Fall beweist auch den Wert einer genauen Untersuchung des Liquors. Hätten wir kein gefärbtes Präparat von dem durch scharfes Auszentrifugieren gewonnenen Sediment des Liquors angefertigt und denselben nur auf einer gewöhnlichen Glyzerinagarplatte und nicht auch gleichzeitig auf einer Blutplatte ausgestrichen, so wäre der Krankheitsfall ungeklärt geblieben. Es ist ferner bemerkenswert, daß unser Fall in vollkommene Heilung übergegangen ist.

Was die Eingangspforte anbetrifft, so ist anzunehmen, daß die Keime von der Nasenhöhle aus durch die Lamina cribrosa auf die Meningen übergewandert sind. Schwerere Erscheinungen in der Nase oder im Rachen brauchen dabei nicht vorzuliegen, wie wir dies ja auch von der Meningokokken- und Pneumokokkenmeningitis her wissen. Schon Nauwerck schreibt: „Es zeigt sich, daß das Gehirn rasch und todbringend bazillär infiziert werden kann, ohne daß mehr als ein leichter, nicht weiter beachteter Schnupfen die mutmaßliche Eingangspforte verrät.“ In unserem Falle war nicht einmal ein Schnupfen festzustellen oder anamnestisch zu eruieren.

Es handelt sich also um einen Fall von Meningitis, hervorgerufen durch eine Spielart des Influenzabacillus, der urplötzlich aus voller Gesundheit heraus entstanden ist, bei ausgesprochenen meningitischen Symptomen einen klaren Liquor zeigte, in dem die krankhaften Keime mikroskopisch und bakteriologisch nachgewiesen werden konnten, und der in vollkommene Heilung übergegangen ist.

Literatur.

1) **Jochmann** u. **Krause**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36. S. 193.
2) **Odaira**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61.
3) **Cohen**, Ann. de l'Institut Pasteur. 1909; nach **Scheller**, Die Gruppe der hämoglobinophilen Bakterien. (**Kolle** u. **Wassermann**, Handb. d. pathogen. Mikroorgan. 2. Aufl. Bd. 5. S. 1297.)
4) Ebend., S. 1296.
5) Ebend., S. 1300.
6) **Leichtenstern**, Influenza. (**Nothnagels** Handbuch. IV. Bd. 1. S. 123 u. 125.)
7) **Nauwerck**, Deutsch. med. Wochenschr. 1895.
8) **Fraenkel**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 27.
9) **Jundell**, Jahrb. f. Kinderheilk. III. F. Bd. 9.
10) **Trailescu**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 32. S. 391.
11) **Slawyk**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 32.
12) **Saathoff**, München. med. Wochenschr. 1907.
13) **Langer**, Jahrb. f. Kinderheilk. III. F. Bd. 3.
14) **Ghon**, Wien. klin. Wochenschr. 1902.

15) Cattaneo, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 39. S. 455.
16) Douglas, Lancet. 1907.
17) Longo, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 41. S. 285.
18) Ritchie, Journ. of Path. and Bact. Vol. 14.
19) Haedke, München. méd. Wochenschr. 1897.
20) Meumer, La Semaine med. 1900.
21) Peucker, Prag. med. Wochenschr. 1901.
22) Hecht, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 52.
23) Gaehtgens, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75.

Nachdruck verboten.

Ueber die neue sero-chemische Reaktion bei Syphilis von Bruck.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Halle (stellvertretender Direktor: Privatdozent Dr. W. Schürmann).]

Von Privatdozent Dr. **W. Schürmann** und **L. Modde.**

Gleich nach dem Erscheinen der Bruckschen Arbeit über „eine sero-chemische Reaktion bei Syphilis“, die eine bedeutende Vereinfachung der bisher üblichen Untersuchungsmethode bedeuten würde, haben wir das Verfahren wegen seiner Wichtigkeit und Einfachheit einer Nachprüfung unterzogen. Dabei wurden die von Bruck gegebenen Vorschriften, auf die wir hier nicht bis ins Einzelne eingehen wollen, genauestens innegehalten.

Die theoretischen Grundlagen der Wassermannschen Reaktion sind bis heute zweifelhaft geblieben. Ob wir es hier mit einer Antigen-Antikörperreaktion zu tun haben oder mit rein physikalisch-chemischen (Präzipitations-)Vorgängen, oder mit einer Lipoidreaktion, ist noch unentschieden. Neuere Untersuchungen deuten darauf hin, daß der eine der wirksamen Körper, der der sogenannten Antigenlösungen, lipoiden Charakter hat, der andere, der Antikörper im Serum, den Charakter eines Globulins besitzt. Demnach würde die Veränderung im Blute der Syphiliskranken in einer Veränderung im Zustand oder der Quantität der Eiweißsubstanzen beruhen, in einer Vermehrung der Globuline oder Verminderung der Albumine oder einer Zustandsänderung dieser Körper, wobei erstere leichter durch andere Kolloide ausgeflockt werden als in der Norm.

Bruck hat bei der Untersuchung von Lues- und Normalserum die Beobachtung gemacht, daß beim Zusatz von Alkali der Salpetersäureniederschlag der Luetikerseren sich im allgemeinen schwerer und langsamer löst als der der Normalseren. Wurde dann das durch den Salpetersäurezusatz gefällte Albuminat in Aqua destillata wieder zur Lösung gebracht, so konnte er feststellen, daß sich bei einer gewissen Verdünnung das gesamte Säurealbuminat des Normalserums in Wasser löst, während bei derselben Verdünnung noch ein Teil des Säurealbuminats des Luesserums ungelöst bleibt. Bruck selbst vermutet, daß seine neue Reaktion auf einer „Eiweißvermehrung" beruht.

Wir stehen auf dem Standpunkt, daß die Reaktion von Bruck zu der Klausnerschen Reaktion in nahe Beziehung zu bringen ist. Klausner fand, daß beim Zusatz von destilliertem Wasser (0,7 ccm) zu Syphilisserum (0,2 ccm) Präzipitation auftrete, die auf eine Globulinfällung zurückzuführen sei. Im normalen Serum wurden ebenfalls, wenn auch schwächere positive Reaktionen, aber keine Globulinfällung beobachtet.

Auch die Nonnesche Reaktion für die Lumbalflüssigkeit beruht auf Globulinvermehrung bei Syphilis, sowie andere Fällungsreaktionen (Porges, Elias, Neubauer, Salomon).

Sachs und Altmann (Berlin. klin. Wochenschr. 1908) haben die Beobachtung gemacht, daß das Eiweiß vieler Syphilissera durch verschiedene Eiweißfällungsmittel leichter ausgefällt wird als das normaler. R. Müller konnte mit Hough (Wien. klin. Wochenschr. 1911. No. 5) eine Vermehrung des Gesamtglobulins bei Lues häufig feststellen. Bei Fällen, wo eine Vermehrung des Gesamtglobulins nicht nachweisbar war, fanden sie eine Verschiebung der Globulinfraktion zugunsten des Euglobulins; aber auch dieses Verhalten war nicht genügend spezifisch, um praktisch verwertbar zu sein. Noguchi (Journ. exper. Med. 1909) konnte den Nachweis erbringen, daß bei luetischen Seren der Globulinniederschlag (durch Ammonsulfat herbeigeführt), im Gegensatz zu normalen Seren, meist vermehrt war.

Die Untersuchungen von Kämmerer ergaben, daß die nach Bruck negativen Seren weniger durch gesättigte Ammoniumsulfatlösung fällbares Globulin enthalten als die nach Bruck positiven.

Wassermann und Lange fassen das Entstehen der positiven Wassermannschen Reaktion als durch Auflösung syphilitischer Infiltrationszellen bedingt auf. Es ist erklärlich, daß der Zerfall der Infiltrationszellen eine Globulinvermehrung veranlaßt, wie sie auch bei anderen Infektionskrankheiten beobachtet wird. Der positive Ausfall der Wassermannschen Reaktion hängt aber weniger von der Menge des vermehrten Globulins, als von seiner Beschaffenheit ab. So haben Wassermann und Lange zweimal nachweisen können, daß man mit dem durch Auflösen gewaschener luetischer Liquorlymphocyten erhaltenen Eiweiß eine positive Wassermannsche Reaktion erhalten kann, bei annähernd gleichem Eiweißgehalt aus Tuberkuloselymphocyten dagegen nicht. Somit läßt sich sagen, daß die positive Wassermannsche Reaktion von der Qualität, die Brucksche Reaktion von der Quantität der Globuline abhängig ist.

Unser Versuchsplan war folgender:

1) Es wurde parallel mit der Wassermannschen Reaktion und der Sternschen Modifikation am gleichen Tage auch die Brucksche Reaktion ausgeführt.

2) Es wurden ältere, einige Tage im Eisschrank aufbewahrte Sera nochmals nach Bruck untersucht.

3) Es wurden aktive und inaktive Sera nebeneinander nach Bruck geprüft.

4) Es wurden zur Kontrolle Normalsera und andere Immunsera in gleicher Weise geprüft.

Im Verlaufe unserer Versuche sind inzwischen mehrere Arbeiten über die neue Methode von **Bruck** erschienen, die sich mehr ablehnend als bestätigend für das neue Verfahren aussprechen.

H. **Schmitz**[1]) in Dresden hat im ganzen 160 Sera nach **Wassermann** und **Bruck** untersucht. Von diesen stimmten mit der **Wassermann**schen Reaktion nur 76 überein; davon 20 positive und 56 negative.

H. **Kämmerer**[2]) in München unterzog 84 Seren einer vergleichenden Untersuchung nach **Wassermann** und **Bruck**, und konnte der von **Bruck** angegebenen Methode keine Spezifizität für Lues zuschreiben.

R. **Müller**[3]) in München prüfte 84 Sera, worunter 38 Luetikersera — darunter 18 Sera von Patienten mit luetischen Erscheinungen und 7 Sera von Lues latens — und 46 Nichtluetikersera sich befanden. Nach dem Ergebnis seiner Untersuchungen konnte **Müller** eine Unspezifizität der neuen Reaktion besonders bei Tuberkuloseseren in 80 Proz., bei klinisch Nichttuberkulösen und Gesunden in etwa 11 Proz. nachweisen. Er kommt zu dem Schlusse, daß die **Bruck**sche Methode häufig bei Nichtluetikern, besonders bei tuberkulösen Erkrankungen, vorkommt, daß sie bei behandelter Lues häufig versagt, daß sie vollständig fehlen kann bei rezenter Lues, wo die **Wassermann**sche Reaktion stark positiv ausfiel.

Pöhlmann[4]) verhält sich gegenüber der neuen Reaktion in ihrer jetzigen Gestalt ablehnend, im Hinblick auf den häufigen positiven Ausfall der neuen Reaktion bei nicht vorhandener Lues. Nach seinen Untersuchungen versagt sie bei latenter Lues fast vollständig und häufig bei manifesten luetischen Erscheinungen. Unspezifische Resultate gab sie in 15 Proz. der Fälle. „Quantitativ wird bei Lues II und bei nichtsyphilitischen Affektionen gelegentlich gleich starke positive Reaktion beobachtet. Mit der **Wassermann**schen Reaktion geht die neue Reaktion nicht parallel.“ Auch **Hauptmann**[5]) und **Funccius**[6]) kommen zu dem Schluß, daß die **Bruck**sche Reaktion als Ersatz der **Wassermann**schen Reaktion nicht in Frage kommen kann.

Wir haben im ganzen 263 Fälle einer eingehenden Prüfung unterzogen und zwar wurden 97 Sera, wie oben angegeben, **gleichzeitig** nach **Wassermann**, **Stern** und **Bruck** (Tabelle I), 47 Sera in der gleichen Weise, aber die **Bruck**sche Methode nach 2 Tagen mit denselben Seren nochmals (Tabelle II) und 92 Sera gleichzeitig aktiv und inaktiv nach **Bruck** neben **Wassermann** und **Stern** (Tabelle III) geprüft.

Die von uns benutzten Seren waren der **Wassermann**-Abteilung zur Untersuchung eingesandt worden.

Tabelle I zeigt, daß unter 97 Fällen **32 Fälle nach Wassermann, Stern und Bruck übereinstimmend positiv, 25 Fälle übereinstimmend negativ** reagierten.

---

1) München. med. Wochenschr. 1917. No. 7.
2) Ebenda. 1917. No. 8.
3) Ebenda. 1917. No. 9.
4) Deutsch. med. Wochenschr. 1917. No. 12.
5) Ebenda. 1917. No. 16.
6) Berl. klin. Wochenschr. 1917. No. 17.

Tabelle I.

	W. R.	Sternsche Modifikation	Bruck	Schon spezifisch behandelt
Drüsenschwellung. Papeln	++++	++++	++++	nein
Bubonen. Suspektes Exanthem	++++	++++	++++	ja
Erosionen	++++	++++	++++	nein
Suspekte Epitheltrübungen der Tonsillen	++++	++++	++++	ja
Maritus wegen Lues in Behandlung	++++	++++	++++	nein
Angina susp.	++++	++++	++++	"
Periostitis der Stirn (Tbc. oder Lues ?)	++++	++++	++++	"
Roseola	++++	++++	++++	"
Ohne Angaben	++++	++++	++++	—
Seit 8 Tagen breite Kondylome	+++	++++	++++	nein
Ulzerationen. Ehemann syphilitisch	+++	++++	++++	—
Bubonen	+++	++++	++++	nein
Erosionen	+++	++++	+++	"
Ulcera cruris. Indolente Drüsen	+++	.	+++	ja
Keine Erscheinungen mehr	+++	.	+++	ja bis jetzt
Papeln	+++	.	+++	nein
Perforation des Gaumens	+++	.	++++	ja
Leistendrüsenschwellung nach weichem Schanker	++++	++++	+++	"
Papeln	+++	++++	+++	"
Sekundäre Geschwürsbildung	+++	+++	+++	nein
Ohne Angaben	+++	+++	+++	ja
Knochenschmerzen im Schienbein	+++	+++	++	nein
Rückenmarkserkrankung	+++	++++	++	"
Syphilitischer Ausschlag	+++	++++	++	ja jetzt
Keine Erscheinungen mehr	++	+++	++	ja
Knieerscheinungen	++	++	++++	nein
Kopfschmerzen	++	++	+++	—
Keine Erscheinungen. Ehemann ist Luetiker	++	++	++++	nein
Aufgehobene Pupillenreaktion	++	.	++++	—
Geschwüre	++	.	+++	ja
Herzbeschwerden. Aortenfehler	++	++	++	—
Gelenkschwellungen	++	++	+ ?	ja
Nervöse Beschwerden	+	++	++	ja bis vor 3 Monat.
Rest eines makulösen Syphilids	+ ?	++	++	ja
Kondylome	+++	+++	+	nein. Infekt. vor 6 Wochen
Vor 12 Wochen P. A. 6 Wochen später harter Schanker	++++	++++	+	—
Ohne Angaben	+++	++++	+ ?	ja
Keratitis parenchymatosa	++++	++++	—	—
Hemiplegie	+++	++++	—	ja
Heftige Kopfschmerzen	++	++++	—	"
Ohne Angaben	++	++++	—	"
" "	+++	.	—	"
Augenblicklich keine Erscheinungen	++	++	—	"
Dgl.	+	+	—	"
Angeblich im Anschluß an Erkältung vor ein paar Monaten wunde und belegte Zunge	+	—	+++	nein
Vor 8 Wochen positive W. R.	+	—	—	ja
4 Fehlgeburten. Ein Kind ist syphilitisch	—	+ ?	+	—
Herzmuskelentartung	—	+	++	—
Verdacht auf P. A.	—	+ ?	++	nein
Keine Erscheinungen. Ehemann ist Luetiker	—	+	+	—
Paralyse	—	+ ?	+++	ja

	W. R.	Sternsche Modifikation	Bruck	Schon spezifisch behandelt
Gehirndruckerscheinungen	—	—	++++	nein
Uxor hat vor 2 Monaten P. A. gehabt	—	—	++++	—
Keine Erscheinungen mehr	—	—	++++	ja
Einrisse, l. Leistendrüsen geschwollen	—	—	++++	—
Bubo oder Schanker	—	—	+++	—
Oculomotoriuslähmung. Keratitis neuroparalytica	—	—	+++	ja. W. R. vor 1 Jahr ++++
Rezidiv. Herpes genit.	—	—	+++	ja
Beide Sera stammen von einem Ehepaar, ihr Kind von 5 Wochen hat Exanthem am Körper	—	—	+++	—
	—	—	++	—
Polyneuritis (Tabes?)	—	—	++	nein
Jetzt nichts. Vor ³/₄ Jahr Roseola, Kondylome	—	—	++	ja
Keine Erscheinungen mehr	—	—	++	„
Verdächtige Roseola	—	—	++	nein
Hirnerscheinungen	—	—	+++	„
Seit Monaten nicht heilende Wunde	—	—	++	„
Multiple Leistendrüsen. 1916 Ulcus molle	—	—	+++	—
Keine Erscheinungen	—	—	+ ?	ja
Schwere Anämie	—	—	+ ?	—
Leberschwellung	—	—	+ ?	—
Ammenuntersuchung	—	—	+	nein
Pupillenträgheit. Herabgesetzte Reflexe	—	—	+ ?	—
P. A. Multiple Ulcera. Multiple Leistendrüsen	—	—	—	nein
Lymphome am Halse, Achselhöhle, Abdomen	—	—	—	„
Keine Erscheinungen	—	—	—	ja
Pupillenanomalien	—	—	—	—
Innervationsstörungen	—	—	—	—
Neurasthenische Erscheinungen	—	—	—	nein
Sehnervenatrophie. Lues congenita	—	—	—	„
Keine Erscheinungen. Ehefrau hat Lues	—	—	—	—
Geschwüre an den Stimmbändern. Ausschläge der Mundschleimhaut	—	—	—	nein
Linksseitige Lymphdrüsenschwellg.	—	—	—	—
Hereditäre Lues?	—	—	—	—
Sehnervenatrophie, nach Schmierkur gebessert	—	—	—	ja
Keine Erscheinungen	—	—	—	„
Epileptiforme Krämpfe	—	—	—	nein
Iritis	—	—	—	—
Papulöser Ausschlag	—	—	—	ja
Cerebrale Erscheinungen	—	—	— leicht. Trüb.	—
Keine Erscheinungen, außer einer Narbe	—	—	—	ja
Keine Erscheinungen mehr	—	—	—	„
P. A. mit positivem Spirochätenbefund	—	—	—	nein
Epileptoide Anfälle	—	—	—	„
Syphilitischer Ausschlag?	—	—	—	—
Ulcus mit Drüsenschwellungen	—	—	—	—
Lues cerebrospinalis	—	—	—	ja
Tumor cerebri-Erscheinungen	—	—	—	—

Die übrigen 40 Fälle weichen in ihren Ergebnissen bei den einzelnen Methoden voneinander ab. So sind 16 Fälle, die im Wassermann und Stern negativ reagierten, im Bruck positiv, 6 Fälle, die im Wassermann und Stern positiv reagierten, im Bruck negativ, 1 Fall, der im Wassermann und Stern angedeutet war, im Bruck stark positiv. Die übrigen hier nicht bis ins Einzelne aufgeführten Fälle (17) sind in der Tabelle nachzusehen; sie weisen nur geringe Schwankungen zwischen den Ergebnissen der 3 Prüfungsmethoden auf.

In Tabelle II sind die Ergebnisse der gleichzeitig nach Wassermann, Stern und Bruck geprüften Sera enthalten. Außerdem enthält die Tabelle eine Rubrik, in der die Resultate der gleichen Sera nach einigen Tagen Aufbewahrung nach Bruck wiedergegeben sind.

Nach Wassermann, Stern und Bruck waren mit frischen Seren 20 Fälle übereinstimmend positiv, mit alten Seren nach Bruck nur 18. Uebereinstimmend negativ nach Wassermann, Stern und Bruck, sowohl frisch wie alt, 5 Fälle; 13 weitere Fälle, die nach Wassermann und Stern negativ ausschlugen, gaben nach Bruck in frischem Zustande ein positives Resultat, nach 2-tägiger Aufbewahrung nach Bruck immer noch 7 Fälle einen positiven Ausschlag; 2 nach Wassermann und Stern stark positive Fälle waren nach Bruck sowohl in frischem wie älterem Zustande negativ. Ein im Wassermann nur angedeuteter Fall erwies sich im Bruck (frisch und alt) positiv.

Hervorgehoben sei noch 1 Fall, der im Wassermann und Stern stark positiv, nach Bruck frisch untersucht, negativ, nach 2 Tagen nachgeprüft, positiv reagierte.

Ueberblickt man die Tabelle, so fällt auf, daß die Brucksche Reaktion, mit länger aufbewahrten Seren ausgeführt, gegenüber einigen nach Bruck geprüften frischen Seren eine Abnahme in Höhe der Kuppenbildung zeigte. Einige nach Bruck frisch geprüfte Sera mit positivem Befund zeigten nach der Aufbewahrung ein fragliches (+?), einige ein negatives Ergebnis.

In der Tabelle III sind die Sera in aktivem und inaktivem Zustande nach Bruck untersucht.

Uebereinstimmend positiv waren nach Wassermann, Stern und Bruck im aktiven Zustande 14, im inaktiven Zustande nach Bruck 12 Sera; 9 nach Wassermann und Stern positive Fälle waren nach Bruck aktiv und inaktiv negativ; von 16 nach Wassermann und Stern negativen Seren reagierten nach Bruck aktiv und inaktiv 16 positiv. Uebereinstimmend negativ nach Wassermann, Stern und Bruck inaktiv 27 Fälle.

Die kleineren Schwankungen sind aus der Tabelle zu ersehen, wie z. B., daß manche Seren, die im Wassermann und Stern negativ reagieren, nach Bruck aktiv positive und angedeutete Reaktion geben, inaktiv vollkommen negativ sich verhalten und vice versa. Es kommt auch vor, daß Sera, die im Wassermann und Stern eine positive Reaktion geben, nach Bruck aktiv negativ oder fraglich, inaktiv dagegen positiv reagieren.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, besteht bei der Bruckschen Reaktion zwischen aktiven und inaktiven Seren kein großer Unterschied. Hier und dort ist eine quantitative Vermehrung, bzw. Verminderung des Niederschlags beobachtet worden.

Tabelle II.

	W. R.	Sternsche Modifikation	Bruck		Schon spezifisch behandelt
			Frische Sera	Dieselben 2 Tage später	
Augenblicklich keine Erscheinungen; vor 6—7 Wochen verdächtige Erosionen	++++	++++	++++	++++	nein
Jetzt eventuell neuer P. A.	++++	++++	++	++++	ja
Geschwollene Drüsen	++++	++++	++++	++	nein
Larynx-Lues	++++	++++	++++	+++	„
Keine Erscheinungen. Drüsenschwellungen. Acne vulgaris	+++	++++	++++	++++	„
Papulo-makulöses Exanthem	+++	+++	++++	++++	—
Aneurysma aortae. Recurrenslähmung	+++	+++	++++	++++	—
Mandelgeschwür	+++	+++	++++	++++	nein
Beiderseits schwere Chorioretinitis atrophicans	++	++++	++++	++++	ja
Roseolen	+++	+++	++++	+++	„
Heiserkeit	+++	+++	++++	+++	nein
Ohne Angaben	++	+++	+++	+++	—
Dgl.	++	++	++++	++++	—
Drüsen	++	++	+++	+++	—
Nervöse Kopfschmerzen	++	.	++++	+++	ja
Condylomata lata	+++	+++	++	++	nein
Tumor retrobulbaris	++	+++	+++	++	?
Keine Erscheinungen. Hat aber nachweislich jemand infiziert	++	++	++	++	ja
Tabes dorsalis	++	++	++	+ ?	nein
Kondylome. Vor 8 Tagen W. R. —, Stern ++	+ ?	+ ?	+	+ ?	—
Geringe Ausgiebigkeit der pupillaren Lichtreaktion	+	.	+++	++	ja
Zeitweilige Benommenheit	+++	+++	+++	—	?
P. A. Halsschmerzen	+++	+++	—	—	ja
Plaques u. Leucoplacia a. d. Zunge	+++	++++	—	—	nein
Papulöser Ausschlag, eventuell atypische Psoriasis	+	+	—	—	„
Papeln	—	—	++++	++++	„
Syphilitischer Ausschlag	—	—	++++	++++	—
Verdächtiges Geschwür	—	—	++++	++++	—
Lungentuberkulose? Lues?	—	—	+++	+++	ja, vor 5 Jahr.
Kniereflexe erloschen. Romberg angedeutet. Parese in d. Beinen. Gürtelgefühl	—	—	++	++	—
Zweifelhaftes Exanthem	—	—	+++	+++	ja
Ohne nähere Angaben	—	—	+++	++	„
Gehirnerscheinung. Blasen-Mastdarmlähmung	—	—	+++	+	niemals spezifisch
Roseolen	—	—	+++	+	nein
Kopfschmerzen. Romberg	—	—	+	+	—
Ohne nähere Angaben	—	—	++	+ ?	ja
Iritis. Sekundärglaukom	—	—	++	+ ?	nein
Iritis und Retinitis	—	—	+ ?	+ ?	ja
Ohne Angaben	—	—	++	—	„
P. A.	—	—	++	—	—
Keine Erscheinungen mehr	—	—	+	—	ja
Drüsenabszesse am Halse	++++	++++	— getrübt	+++	„
Pupillenstörungen	—	—	—	—	—
Keratitis interstitialis	—	—	—	—	nein
Lichtträgheit der Pupillen	—	—	—	—	ja
Verdacht auf Lues	—	—	—	—	—
Geschwüre im Munde	—	—	—	—	nein

Tabelle III.

	W. R.	Stern-sche Modifikation	Bruck		schon spezifisch behandelt
			aktive Sera	inaktive Sera	
Lues hepatis	++++	+++	++++	++++	nein
Condylomata lata	++++	.	++++	++++	„
Ulcus. Condylomata lata	+++	+++	++++	+++	ja
Chorioiditis	++++	++++	++++	++	—
Ausschlag. Ehemann hat Lues	++++	.	+++	+++	nein
Dgl.	++++	.	++	+	—
Früher W. R. ++++	+++	+++	++	++++	ja
Indolente Bubonen	++	++	++++	+++	—
Soll jemand infiziert haben	+++	++	++	+++	nein
Keratitis parenchymatosa	++++	++++	++	++	—
Zur Nachprüfung	+++	+++	+ ?	++	ja
Vorhautgeschwür	++	+++	+++	++	—
Pupillendifferenz. Reflexstörungen	++	++	++	+++	—
Zirkulationsstörungen im Gehirn	++	++	+++	+++	ja
Früher W. R. ++	++	++	+ ?	++	„
Ohne Angaben	+++	++	+ ?	+	„
„ „	+ ?	++	— Trübung	+++	—
Aorteninsuffizienz	++	++	—	++	nein
Geschwüre	++	++	+++	+ ?	—
Keine Erscheinungen mehr	++	++	+	+	ja
Keine spezifischen Erscheinungen	+++	++++	+	—	„
Dementia paralytica	++++	.	—	+	nein
Keine Erscheinungen mehr	++	+	+ ?	— Trübung	ja
Gumma r. Schulter	++++	++++	—	—	ja
Ohne Angaben	++++	++++	—	—	„
Größenideen, unsinnige Handlungen, lichtstarre Pupillen	++++	++++	—	—	—
Keine Erscheinungen	+++	++++	—	—	ja
Dgl.	+++	+++	—	—	„
Geschwüre, Sattelnase	+++	+++	—	—	—
Lähmungserscheinungen	+++	++	—	—	—
Zurzeit gesund	++	+++	—	—	ja
Keine Erscheinungen	++	++	—	—	„
Vor 2 Jahren harter Schanker	++	+	—	—	„
Paralyse	++	—	—	—	„
Ohne Angaben	++	.	—	—	„
R. Ptosis	—	—	++++	++++	—
Narben am Unterschenkel	—	—	++++	++++	—
Alopecia	—	—	++++	++++	—
Geringe Ausgiebigkeit der pupillaren Lichtreaktion. Schwere Ataxie der Beine	—	—	+++	++++	ja
Indurierte Effloreszenzen	—	—	++++	+++	—
4 Fehlgeburten, 3 Frühgeburten	—	—	++++	+++	—
Keine Erscheinungen	—	—	+++	+++	ja
Vor ca. 1 Jahr Abgang einer zweimonatigen Leibesfrucht ohne Ursache	—	—	+++	+++	nein
Keine sichere Lues, aber Ehemann hatte verdächtige Erscheinungen	—	—	++	+++	ja
Lues spinalis	—	—	++	+++	?
Iritis	—	—	+++	++	—
Papulöses Syphilid	—	—	+++	++	ja
Psychische Symptome	—	—	+++	++	nein
Geringe Ausgiebigkeit der pupillaren Lichtreaktion	—	—	++	++	„
Früher Ausschlag. Jetzt nichts	—	—	++	++	ja

	W. R.	Sternsche Modifikation	Bruck		schon spezifisch behandelt
			aktive Sera	inaktive Sera	
Auf ganzem Körper Roseola. War jetzt 3 Monat in Lungenheilanstalt	—	—	++	++	—
Nervöse Kopfschmerzen	—	—	+	++	nein
Ohne Angaben	—	—	++	+?	—
Ikterus	—	—	+	+?	—
Bubo inguinalis	—	·	+?	+?	—
Keine Erscheinungen	—	—	+	+?	ja
Dgl.	—	—	+	+	„
Körpergewichtsabnahme. Fiebererscheinung	—	—	+++	—	„
Keine Erscheinungen	—	—	+	—	„
Fehlende Patellarreflexe, gastrische Krisen	—	—	+?	—	—
Ohne Angaben	—	—	+?	—	—
„ „	—	—	+?	—	ja
Keine Erscheinungen	—	—	—	+	„
Ohne Angaben	—	—	—	+	nein
Chorioiditis beiderseits	—	—	—	+?	„
Littlésche Krankheit	—	—	—	—	—
Keine Erscheinungen	—	—	—	—	ja
Geringe Ausgiebigkeit der pupillaren Lichtreaktion	—	—	—	—	nein
Geringe Ausgiebigkeit der pupillaren Lichtreaktion. Schwere Ataxie der Beine	—	—	—	—	?
Keine Erscheinungen	—	—	—	—	ja
	—	—	—	—	„
Nephritis	—	—	—	—	?
Depressive Stimmung, entrundete Pupillen	—	—	—	—	ja
Progressive Paralyse	—	—	—	—	—
Ohne Angaben	—	—	—	—	—
Jetzt keine Erscheinungen	—	—	—	—	ja
Schwindel, Kopfweh, Gedächtnisschwäche	—	—	—	—	—
Keine Erscheinungen	—	—	—	—	ja
Dgl.	—	—	—	—	„
Ulcus	—	—	—	—	nein
Trägheit der pupillaren Lichtreaktion. Kritiklosigkeit	—	—	—	—	?
Jetzt nichts. Vor 3 Jahren Lues III	—	—	—	—	ja
Keine Erscheinungen	—	—	—	—	„
Dgl.	—	—	—	—	„
Dgl.	—	—	—	—	„
Ohne Angaben	—	—	—	—	„
Pupillen- und Reflexanomalien	—	—	—	—	—
Geringe Ausbuchtung der Schlagader	—	—	—	—	nein
Ammenuntersuchung	—	—	—	—	—
Ulcus und Drüsenschwellungen	—	—	—	—	—
Geschwür seit 8 Tagen	—	—	—	—	nein
Aortenaneurysma	—	—	—	—	ja

Zeichenerklärung: — klar, ohne Bodensatz; +? klar, Spur Bodensatz; + kleine Kuppe; ++ mittelgroße Kuppe; +++ (—) große Kuppe; ++++ sehr große Kuppe.

Einen Unterschied in der Niederschlagsbildung, je nachdem die Reaktion bei Zimmertemperatur oder im Brutschrank verlief, hat sich nicht ergeben. Das Ablesen des Ergebnisses war erst nach 8—12 Stunden eindeutig möglich.

Wir müssen auf Grund unserer Versuche an 263 Seren erklären, daß die Brucksche Reaktion für eine praktische Verwertung in der jetzigen Form noch nicht in Frage kommt. Einen mit der Wassermannschen Reaktion übereinstimmenden Ausschlag ergab die Brucksche Reaktion unter unseren 263 Fällen 105mal, und zwar 66mal positiv und 39mal negativ, also in 39,9 Proz. der Fälle. Nach Schmitz betrug die Uebereinstimmung 47,5 Proz.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren.

XX. Mitteilung[1]).

(Der Pflanzentumor (Smith). — Das Epithelioma contagiosum des Huhnes. — Das Kalkbeinepitheliom des Huhnes. — Das Molluscum contagiosum des Menschen.)

Von Dr. **E. Saul**, Berlin.

Mit 20 Figuren im Text.

Billroth[2]) schildert in eindrucksvoller Weise klinische Erfahrungen, die ihn veranlaßten, für das Carcinom eine parasitäre Aetiologie anzunehmen. Er erörtert das Auftreten der vielen miliaren Carcinome der Haut, die nach Exstirpation von Mammacarcinomen oft beobachtet werden; er erinnert an die langsam sich entwickelnden Hautcarcinome, die, ähnlich wie Lupustumoren und Lepratumoren, im Zentrum zur Rückbildung gelangen, um an der Peripherie weiterzuwuchern; er schildert die miliaren Tumoren des Peritoneums und der Pleura, bei denen es oft zweifelhaft ist, ob sie carcinomatösen oder tuberkulösen Charakter haben; endlich erwähnt Billroth die Formen von Mammacarcinomen, die Erysipelflammen gleichen, so daß es zweifelhaft sein kann, ob die Hyperämie oder das Carcinom das Primäre ist.

Billroths zitierte Veröffentlichung erschien im Jahre 1890. Seitdem hat die Tumorforschung gelehrt, daß weder die Carcinome noch die Sarkome eine einheitliche Aetiologie besitzen; sie sind sowohl als Infektions- wie Intoxikations- und Konstitutionskrankheiten zu betrachten. — Werden Tumorkrankheiten durch konstitutionelle Ursachen, d. h. durch Stoffwechselprodukte des Tumorträgers hervorgerufen, so unterliegen sie, wie alle Konstitutionskrankheiten, den Gesetzen der Heredität. Zum Beispiel konnte v. Winkel[1]) unter 1075 Fällen von Carcinom 118mal erbliche Belastung konstatieren, und zwar fand er, daß fast in einem Drittel der Fälle die carcinomatöse Erkrankung ein und dasselbe Organ betraf, das also bei den Deszendenten gleichmäßig gegen die krebserregende Noxe empfindlich war. — Die Beobachtungen v. Winkels sind durch Pel[2]) dahin ergänzt worden, daß die ererbte Disposition zu Tumorkrankheiten gelegentlich erst bei den Kindern manifest wird, während sie bei den Eltern latent bleibt. Auch in den Fällen Pels betraf die ererbte Empfindlichkeit gegen die krebserregende Noxe verhältnismäßig häufig ein und dasselbe Organ. Derartige erbliche Anomalien erinnern an die Erfahrung, daß z. B. Naevi bei den Deszendenten an ein und derselben Körperstelle gefunden werden.

---

[1] Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1915. S. 255 usw.

[2] Ueber die Einwirkungen lebender Pflanzen- und Tierzellen aufeinander. Wien 1890. S. 42.

Wie für alle Infektions-, Intoxikations- und Konstitutionskrankheiten, gilt auch für die Carcinome und Sarkome die Erfahrung, daß ihre primäre Lokalisation gewisse Prädilektionsstellen besitzt. Zum Beispiel lokalisieren sich die Gifte der Anilinfarbenindustrie hauptsächlich in den Wandungen der Harnblase, um daselbst, je nach der individuellen Disposition, Carcinome oder Sarkome hervorzurufen. Ebenso schaffen traumatische Läsionen nicht nur für Parasiten, sondern auch für Gifte einen locus minoris resistentiae. Zum Beispiel lokalisieren sich die Gifte, die aus dem Cholestearinstoffwechsel resultieren, häufig an lädierten Stellen der Haut, um dort, je nach der individuellen Disposition, Xanthome oder Xanthosarkome zu veranlassen. [Vgl. S. Weil, Ueber die Bedeutung des Cholestearins usw. — Aus der Königl. Chirurgischen Universitätsklinik zu Breslau. Berlin. klin. Wochenschr. 1915. No. 16.]

Wie alle autonomen Neubildungen, wachsen die Carcinome und Sarkome unizentrisch[3]); sie gehen also aus einer einzelnen Zelle hervor. Wir müssen deshalb die Mutterzelle autonomer Neubildungen mit der Eizelle vergleichen und die formative Reizung der Tumormutterzelle in Parallele stellen mit der parthenogenetischen Entwicklungserregung der Eizelle. Dieselbe kann nach den Untersuchungen von Bataillon[4]) und J. Loeb[5]) durch Gifte oder durch ein Trauma hervorgerufen werden. Dazu kommt die Entwicklungserregung durch photochemische Schädlichkeiten. Menschen, die an Xeroderma pigmentosum leiden, reagieren sogar gegen die Einwirkung des Sonnenlichtes mit carcinomatöser Erkrankung der Haut.

---

[1]) v. Winkel, Ueber die Ursachen des Krebses. Achtzehn Vorträge aus seinem Nachlaß. Wiesbaden 1914. S. 251.

[2]) K. Pel, Familienkrebs. Berliner klin. Wochenschr. 1915. No. 12.

[3]) In den seltenen Fällen, wo Carcinome multizentrisch entwickelt sind, handelt es sich um die Konfluenz mehrerer carcinomatöser Krankheitsherde.

[4]) Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 18. 1904.

[5]) Americ. Journ. of Physiol. Vol. 6. 1900. p. 423 und Pflügers Arch. Bd. 118. 1907.

Bezüglich der Genese metastatischer Tumoren hat Lubarsch[1]) hervorgehoben, daß sie von der jeweiligen Disposition des Tumorträgers abhängig ist. Daher kann es sich ereignen, daß Chorionepitheliome im mütterlichen Organismus zur Entwicklung gelangen, nachdem bereits viele Jahre seit der letzten Gravidität verflossen sind. Aus den Darlegungen Marchands[2]) müssen wir folgern, daß die Chorionepitheliome von metastasierten Chorionepithelien stammen, die durch die Stoffwechselprodukte des Ovulums parthenogenetische Entwickelungserregung erfahren haben.

In den Fällen, wo autonome Neubildungen primär symmetrisch auftreten, oder wo sie dem Verlaufe eines Nerven folgen, dürfte die der Tumorbildung zugrunde liegende zelluläre Ueberempfindlichkeit gegen formative Reize trophoneurotischen Ursprung haben. Auch Naevi, versprengte Keime und ähnliche Abnormitäten sind erfahrungsgemäß in hohem Maße disponiert, gegen traumatische oder giftige Reize mit Tumorbildung zu reagieren. Zum Beispiel hat Lubarsch durch seinen Schüler Larras einen Fall veröffentlichen lassen, in dem sehr kurze Zeit nach der Aetzung mit konzentrierter Salpetersäure aus einem gutartigen Pigmentmal ein metastasierendes Melanosarkom (Melanoepitheliom) entstand. (Vgl. Festschrift für Virchow. Berlin 1901. S. 79.)

Was die oft erörterte Zellmetaplasie betrifft, so bietet uns die Betrachtung der neuen physiologischen Zelltypen, welche die Stoffwechselprodukte des befruchteten Ovulums an den Wandungen des Uterus hervorrufen, einen Maßstab für die Zellverwandlungen, die unter pathologischen Verhältnissen möglich sind. Zum Beispiel bewirken die Stoffwechselprodukte des Tuberkelbacillus, daß aus einer fixen Bindegewebszelle, der Mutterzelle des Tuberkels, Epitheloidzellen[3]) hervorgehen; aus letzteren können wiederum fixe Bindegewebszellen entstehen. Das ist der wahre Kern der alten Virchowschen Lehre, nach welcher unter Einwirkung des Krebsvirus aus Bindegewebszellen Epithelzellen hervorgehen sollten.

In den Metastasen der Rattensarkome, die Jensen[4]) primär mit Reinkulturen eines Bacillus hervorgerufen hatte, — der Bacillus entstammte der pseudotuberkulösen Enteritis eines Rindes, — konnte der Sarkomerreger weder histologisch noch kulturell nachgewiesen werden. Ebenso sind erfahrungsgemäß die Metastasen von Carcinomen, die durch

---

1) Pathologische Anatomie und Krebsforschung. 1902. S. 55.

2) Deutsch. med. Wochenschr. 1902. No. 39 u. 40.

3) Die Epitheloidzellen gleichen nach Form und Anordnung den Epithelzellen; wir nennen sie Epitheloidzellen, weil wir wissen, daß sie nicht von Epithelzellen stammen.

4) Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 7. 1907. S. 45.

Stoffwechselprodukte von Helminthen oder Milben verursacht wurden, frei von diesen Parasiten. Daher müssen wir folgern, daß für die Entwicklung metastatischer Carcinome oder metastatischer Sarkome die Anwesenheit der primären Tumorerreger nicht erforderlich ist. — Aehnlich wie die Bacillen der pseudotuberkulösen Enteritis in dem Falle **Jensens**, können Tuberkelbacillen oder Syphilisspirochäten, vermöge ihrer Stoffwechselprodukte, Epithelzellen bzw. Bindesubstanzzellen zu parthenogenetischer Entwickelung reizen, so daß Carcinome, bzw. Sarkome resultieren. Hinsichtlich der Syphilis hat **Esmarch**[1]) eine ausgezeichnete Kasuistik veröffentlicht. Bezüglich der Tuberkulose betont **Ribbert**[2]) ausdrücklich, daß dieselbe in den Fällen, wo sie mit Carcinom kombiniert auftritt, dasjenige Agens ist, welches das Carcinom hervorruft: **Lubarsch**[3]) fand in den Sektionsprotokollen des Breslauer Pathologischen Institutes unter 2668 Fällen von Tuberkulose 117mal Carcinom = 4,4 Proz. — **Steinhauser**[4]) zitiert 83 Fälle von Hautcarcinom, bei denen die Kombination mit Hauttuberkulose vorlag.

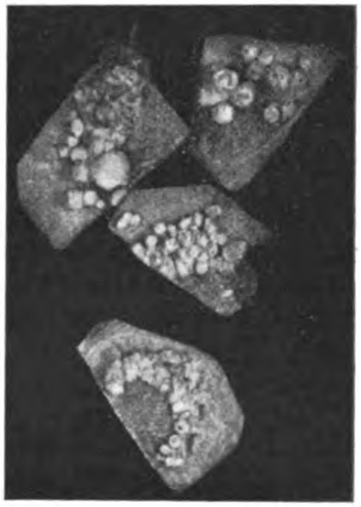


Fig. 1.

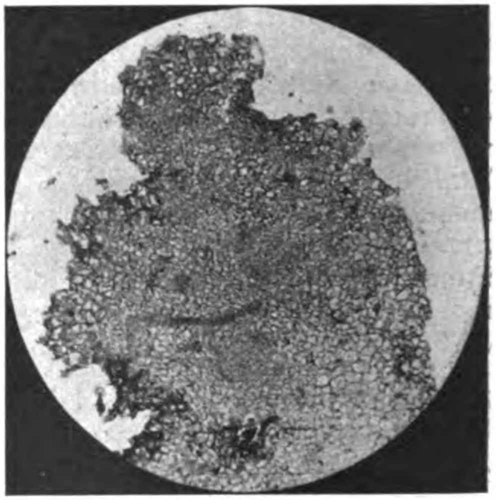


Fig. 2.

Im allgemeinen veranlassen die Tuberkelbacillen und Syphilisspirochäten, außer chronischen Entzündungen, lediglich Granulome; die Entwicklung metastatischer Granulome ist erfahrungsgemäß an die Anwesenheit der ursprünglichen Erreger geknüpft. Rufen jedoch die Stoffwechselprodukte der Tuberkelbacillen und Syphilisspirochäten durch parthenogenetische Entwickelungserregung Carcinome oder Sarkome hervor, so entwickeln sich die metastatischen Tumoren lediglich aus metastasierten Zellen der Primärtumoren.

---

[1]) Arch. f. klin. Chir. Bd. 22. 1878. — Vgl. auch **Sonntag**, E., Deutsch. med. Wochenschr. No. 51 u. 52. 1916.

[2]) Münch. med. Wochenschr. 1894. No. 17 u. Virchows Arch. Bd. 135. 1894.

[3]) Virchows Arch. Bd. 111. 1888. S. 305. — Vgl. auch **Clement**, ebenda. Bd. 139. S. 35 ff.

[4]) Beitr. z. klin. Chir. Bd. 12. 1894.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

An der Hand der folgenden Photogramme möchte ich erläutern:
1. Die Aetiologie und Biologie des Pflanzentumors (Smith).
2. „ „ „ „ „ Epithelioma contagiosum des Huhnes.
3. „ „ „ „ „ Molluscum contagiosum des Menschen.
4. „ „ „ „ „ Kalkbeinepithelioms des Huhnes.

Fig. 1. Der amerikanische Pflanzenpathologe Smith[1]) beschreibt pflanzliche Tumoren, deren Ursache der Bacillus tumefaciens ist. Nach dem Vorgange von Smith habe ich ebenfalls pflanzliche Tumoren mit Agarkulturen des genannten Bacillus hervorgerufen.

Das Gesichtsfeld zeigt eine große Zahl derartiger Tumoren in natürlicher Größe; sie sind auf Mohrrübenscheiben gewachsen. Obgleich die Impfung von derselben Kultur und zu derselben Zeit geschah, haben die Tumoren während der dreiwöchigen Entwicklung Größendimensionen erreicht, die völlig verschieden sind. Beurteilt man den Charakter eines Tumors nach der Schnelligkeit seines Wachstums, so boten diese Tumoren, trotz gleicher Ursache und trotz gleicher Bedingungen für ihre Entwicklung, eine Skala verschiedenartiger Malignität. Die letztere ist daher abhängig von der Disposition der Zellen, die von dem parasitären Reize getroffen werden. Die Inkubationszeit dieser Tumoren beträgt 1—2 Wochen.

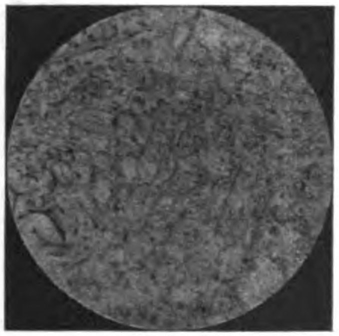


Fig. 3.

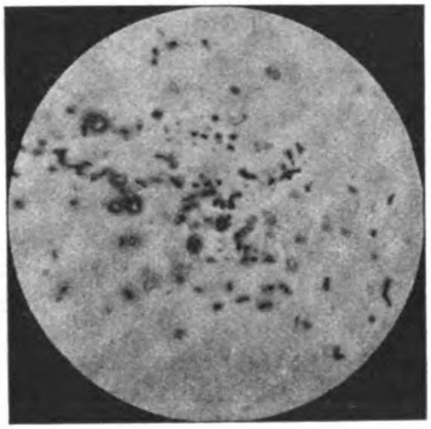


Fig. 4.

Fig. 2. Schnittpräparat eines pflanzlichen Tumors, der mit einer Agarkultur des Bacillus tumefaciens hervorgerufen wurde. Gieson-Färbung. Vergrößerung 1:30.

Man erkennt, daß der Tumor sich breitbasig über dem Muttergewebe erhebt. Die Tumorzellen erscheinen, entsprechend ihrer schnellen Entwicklung, im allgemeinen kleiner als die Zellen des Muttergewebes. Im übrigen weist nichts darauf hin, daß sie durch einen parasitären Reiz hervorgerufen wurden.

Fig. 3. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung (1:250).

Die Morphologie pflanzlicher Tumoren verhält sich im allgemeinen analog derjenigen menschlicher oder tierischer Tumoren. Wie ich bei früherer Gelegenheit zeigen konnte, sind die durch Milben veranlaßten pflanzlichen Tumoren papillär oder cystisch, die Kohlkrebstumoren alveolär gebaut. — Diese Abbildung lehrt, daß die Struktur der pflanzlichen Tumoren, die der Bacillus tumefaciens hervorruft, derjenigen der Sarkome oder der zellenreichen Fibrome entspricht. Da der Bacillus tumefaciens weder grampositiv noch säurefest ist, so kann er in den Schnittpräparaten der Tumoren von histologischen Zellderivaten nicht unterschieden werden; sein Nachweis gelingt nur in Ausstrichpräparaten, die man von dem Tumorgewebe gewinnt.

---

[1]) Crown-Gall of Plants: Its Cause and Remedy. Washington 1911.

Fig. 4. Ausstrichpräparat eines pflanzlichen Tumors, der durch den Bacillus tumefaciens hervorgerufen wurde. Färbung mit Karbolfuchsin. Vergrößerung 1 : 1000.

Der Bacillus tumefaciens ist pleomorph; er erscheint in Ausstrichpräparaten des Tumorgewebes bald in Kugelformen, bald als dickes Stäbchen. Diese dicken Formen zeigt der Bacillus tumefaciens nur in alten Reinkulturen; sie sind daher als Degenerationsformen zu deuten.

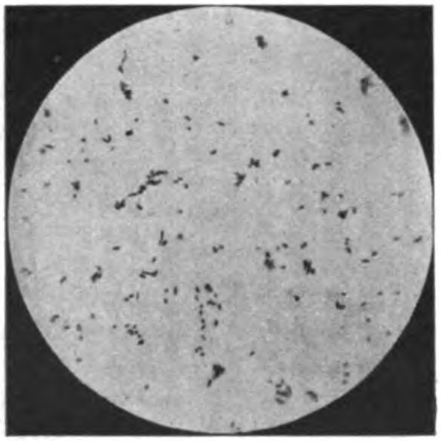


Fig. 5.

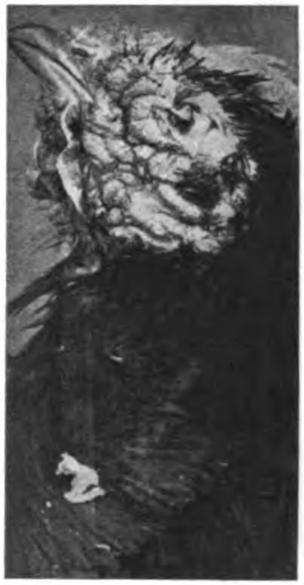


Fig. 6.

Fig. 5. Ausstrichpräparat einer 24-stündigen Agarkultur des Bacillus tumefaciens. Färbung mit Karbolfuchsin. Vergrößerung 1 : 1000.

Der Bacillus tumefaciens wächst auf allen Nährböden bei Zimmertemperatur. Vermöge polarer Geißeln besitzt er starke Eigenbewegung; er ist gramnegativ, wie bereits hervorgehoben wurde.

Von der Pflanzenpathologie komme ich zu der Veterinärpathologie.

Fig. 6. Das Gesichtsfeld zeigt in natürlicher Größe den Kopf eines Huhnes, das an Epithelioma contagiosum erkrankt war. Dieser Tumor entwickelt sich hauptsächlich an den unbefiederten Teilen des Kopfes: am Kamm, an den Kehllappen, den Augenlidern und den Ohren. — Im

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Jahre 1907 entdeckte Carnwath[1]), daß das Epithelioma contagiosum des Geflügels mit Produkten der Geflügeldiphtherie, die er in die Haut des Kammes einrieb, experimentell hervorgerufen werden kann; ebenso erzeugte er Geflügeldiphtherie durch Material des Epithelioma contagiosum. Uhlenhuth[2]) und Manteufel[2]) bestätigten die Resultate Carnwaths. Seitdem werden in der Veterinärpathologie das Epithelioma contagiosum des Geflügels und die Geflügeldiphtherie als ätiologisch einheitliche Krankheiten betrachtet.

Fig. 7. Schnittpräparat eines Epithelioma contagiosum (Huhn). Gieson-Färbung. Vergrößerung 1:50.

Das Gesichtsfeld zeigt im Uebersichtsbild einen Teil des genannten Tumors und angrenzende normale Teile der Haut. Im Bereiche des Epithelioma contagiosum bilden die gewucherten Epithelien des Stratum Malpighii lange Zapfen, die gegen die Pars superficialis der Cutis vordringen, dieselbe komprimierend; die angrenzenden Teile der Cutis sind kleinzellig infiltriert.

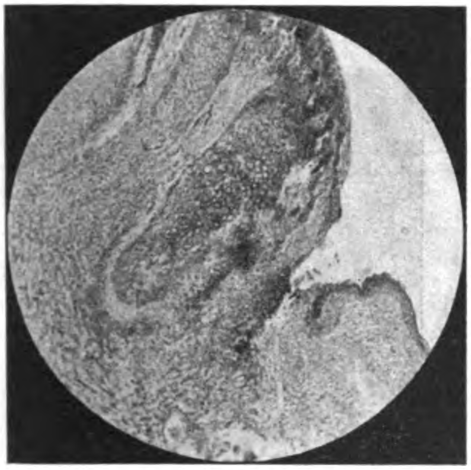


Fig. 7.

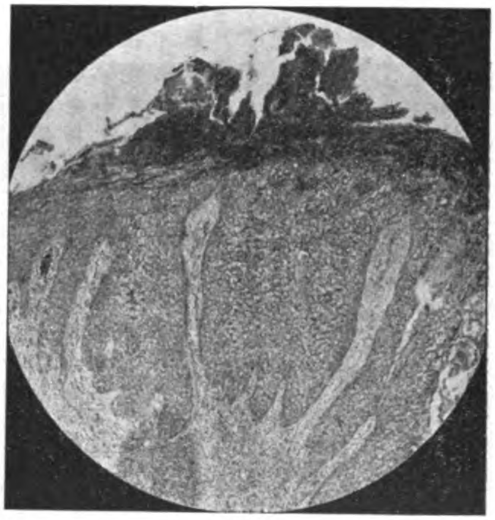


Fig. 8.

Fig. 8. Schnittpräparat eines Epithelioma contagiosum (Huhn). Gieson-Färbung. Vergrößerung 1:50.

Man erkennt im Uebersichtsbild, daß die epitheliale Wucherung des Tumors nicht nur in der Richtung auf die Cutis, sondern auch nach der Oberfläche der Epidermis hin erfolgte. Während an der Oberfläche die gewucherten Epithelien beständig der Verhornung und Loslösung unterliegen, bleibt ihr Zellenbestand in den tiefen Teilen des Tumors erhalten.

Fig. 9. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung (1:250).

In den Epithelien des Epithelioma contagiosum sind vakuoläre Einschlüsse sichtbar; sie werden je nach ihrem Fundorte als Vogelaugen, Pockenkörperchen, Molluscumkörperchen, Guarnerische oder Negrische Körperchen bezeichnet. Gegenwärtig bekunden alle Autoren, daß

---

1) Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 27. 1907. S. 388.
2) Ebenda. Bd. 33. 1910. S. 288.

die vakuolären Einschlüsse als Degenerationsprodukte des Zellprotoplasma oder des Zellkernes zu deuten sind.

Das Epithelioma contagiosum besitzt, wie bereits erwähnt wurde, dieselbe Aetiologie wie die Geflügeldiphtherie. Der Erreger der letzteren ist der von Loeffler[1]) im Jahre 1884 entdeckte Bacillus diphtheriae columbarum. Gegenüber den Bestrebungen, den Bacillus diphtheriae gallinarum von dem Bacillus diphtheriae columbarum zu unterscheiden, kann an die Bemerkung Darwins erinnert werden, daß die Neigung der Autoren, neue Arten zu konstruieren, um so größer, je geringer ihre Erfahrungen sind.

Marx[2]) und Sticker[2]) haben gezeigt, daß das Epithelioma contagiosum des Geflügels durch das Berkefeld-Filtrat des Tumorbreies experimentell hervorgerufen werden kann. Es muß daher der Bacillus des Epithelioma contagiosum, bzw. der Geflügeldiphtherie in dem Sediment der entsprechenden Berkefeld-Filtrate kulturell nachweisbar sein. Dies ist in der Tat der Fall, wie ich konstatieren konnte. Man muß zum Zwecke des Nachweises das gesamte Berkefeld-Filtratsediment mit dem Nährboden, Bouillon, überschichten. Verwendet man ein und dieselben Berkefeld-Filter zu wiederholten Malen, so verlieren sie ihre Durchlässigkeit für korpuskuläre Elemente; man findet dann das Filtratsediment frei von Mikroben. — Im übrigen hat bereits Nakano[3]) für die Syphilisspirochäte bewiesen, daß sie das Berkefeld-Filter durchdringt. — In Schnittpräparaten des Epithelioma contagiosum habe ich den Bacillus desselben niemals gefunden; da er weder grampositiv noch säurefest ist, so kann er innerhalb des Tumorgewebes von histologischen Zellderivaten nicht unterschieden werden. Sein Nachweis gelingt nur in Ausstrichpräparaten, die man vom Tumorgewebe des Epithelioma contagiosum gewinnt.

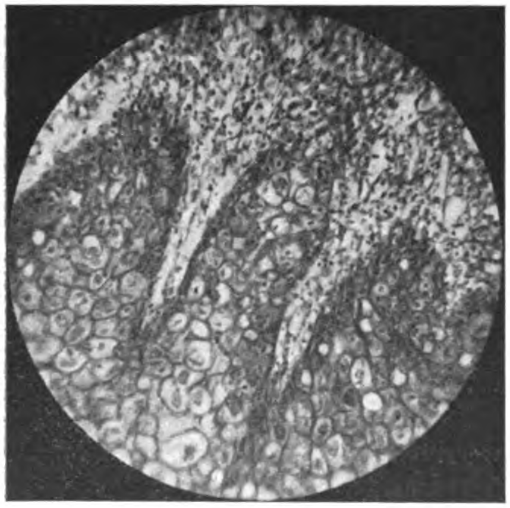


Fig. 9.

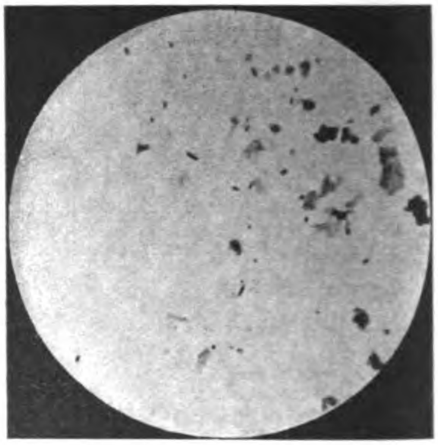


Fig. 10.

Fig. 10. Ausstrichpräparat eines Epithelioma contagiosum (Huhn). Färbung mit Karbolfuchsin. Vergrößerung 1 : 1000.

---

[1]) Mitteilungen a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 2. 1884. S. 421.
[2]) Deutsch. med. Wochenschr. 1902. No. 50. S. 893; ebenda 1903. No. 5. S. 79.
[3]) Ebenda. 1912. S. 1333.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Das Gesichtsfeld zeigt neben histologischen Elementen den Bacillus des genannten Tumors; er ist mit dem Bacillus der Geflügeldiphtherie identisch, wie ich bereits erwähnt habe.

Fig. 11. Ausstrichpräparat einer 24-stündigen Agarkultur des Bacillus der Geflügeldiphtherie, bzw. des Epithelioma contagiosum. Färbung mit Karbolfuchsin. Vergrößerung 1 : 1000.

Dieser Bacillus wächst auf allen Nährböden bei Brüt- und Zimmertemperatur; er ist gramnegativ und besitzt keine Eigenbewegung; er hat die Tendenz, Haufen zu bilden, sich parallel zu lagern und gelegentlich Keulenformen zu produzieren.

Von der Veterinärpathologie komme ich zu der Humanpathologie. **Fig. 12.** Das Gesichtsfeld zeigt im Uebersichtsbild eine Gruppe kleiner Tumoren in natürlicher Größe. Sie erscheinen als runde Exkreszenzen, auf deren Höhe man eine Delle erkennt. Die letztere ist für diese Tumoren charakteristisch. Es handelt sich um Mollusca contagiosa. Ihre Prädilektionsstellen sind die Genitalien, die Schenkel und die Augenlider. Am häufigsten werden sie bei Kindern und bei Puellis publicis gefunden.

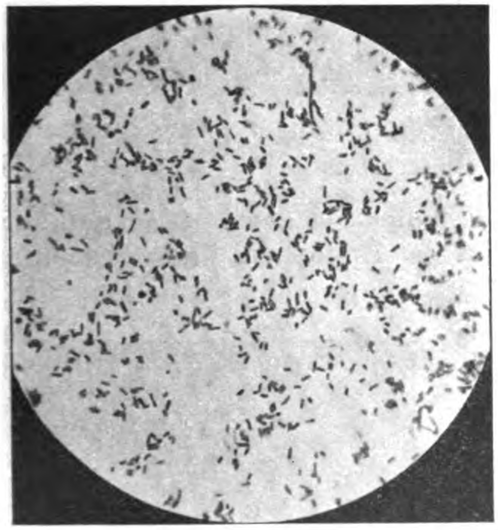


Fig. 11.

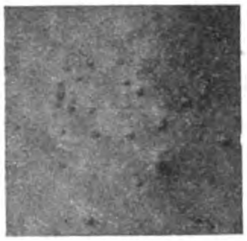


Fig. 12.

Fig. 13. Schnittpräparat eines Molluscum contagiosum im Uebersichtsbild. Färbung nach **Gieson**. Vergrößerung 1 : 50.

Wie **Virchow**[1]) nachgewiesen hat, nimmt das Molluscum contagiosum seinen Ursprung von den Haarfollikeln; es resultiert aus Epithelproliferation und Epithelretention. Die Epithellappen des Molluscum contagiosum sind mit ihrem schmalen Ende gegen die Delle des Tumors gerichtet.

---

[1]) Virchows Arch. Bd. 33. 1865. S. 144.

Fig. 14. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung (1 : 400).

Man erkennt, daß die Epithelien des Molluscum contagiosum in den Maschenräumen eines Stroma liegen. In dem Maße, wie sie gegen die Oberfläche der Epidermis vordringen, verfallen sie dem Prozeß der Verhornung. Die vakuolären Zelleinschlüsse der Epithelien, die sogenannten „Molluscumkörperchen", sind als Degenerationsprodukte des Protoplasma zu betrachten.

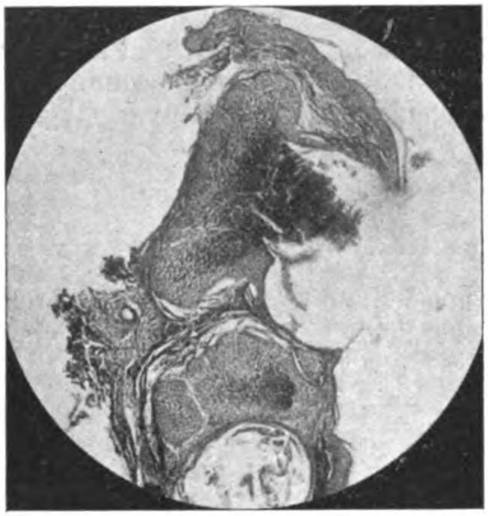


Fig. 13.

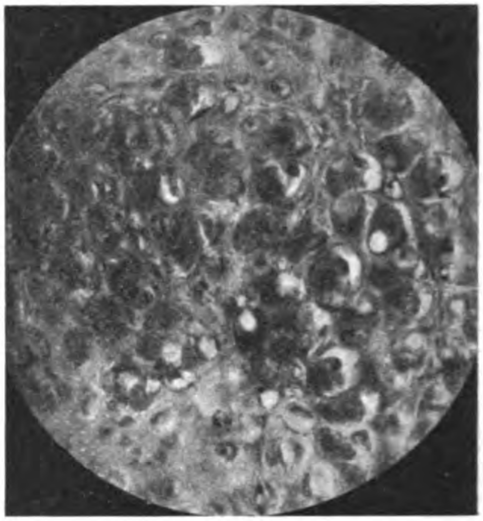


Fig. 14.

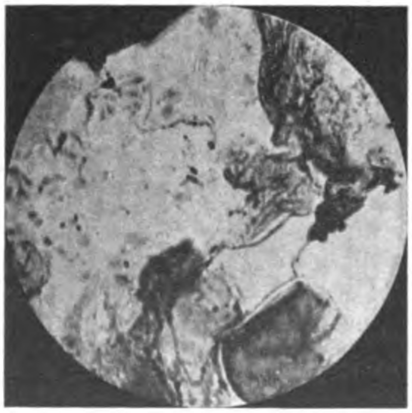


Fig. 15.

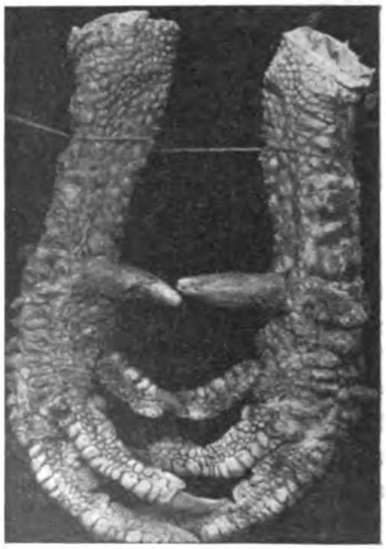


Fig. 16.

Fig. 15. Ausstrichpräparat eines Molluscum contagiosum. Färbung mit Karbolfuchsin. Vergrößerung 1 : 1000.

Neben histologischen Elementen des Tumors bemerkt man Kokken, die kurze Ketten bilden. In Schnittpräparaten des Molluscum contagiosum können sie nicht nachgewiesen werden, weil wir sie zwischen den histologischen Elementen nicht erkennen; sie sind grampositiv. Von den bekannten Streptokokken unterscheiden sie sich dadurch, daß sie auf keinem Nährboden wachsen. Die Streptokokken des Molluscum contagiosum durchdringen das Berkefeld-Filter. Man findet sie daher in Ausstrichpräparaten, die von dem Sediment des Berkefeld-Filtrates[1]) gewonnen werden. — Billroth[2]) betont, wie einseitig unsere Auffassungen bezüglich der ätiologischen Bedeutung der Streptokokken sind, indem wir sie lediglich als Erreger entzündlicher und febriler Prozesse betrachten. Nach den Untersuchungen Billroths ruft der Streptococcus urinae Kondylome hervor. Es ist deshalb wiederholt daran zu erinnern, daß das Molluscum contagiosum am häufigsten bei Kindern und bei Puellis publicis gefunden wird und zwar hauptsächlich an den Genitalien, den Schenkeln und den Augenlidern.

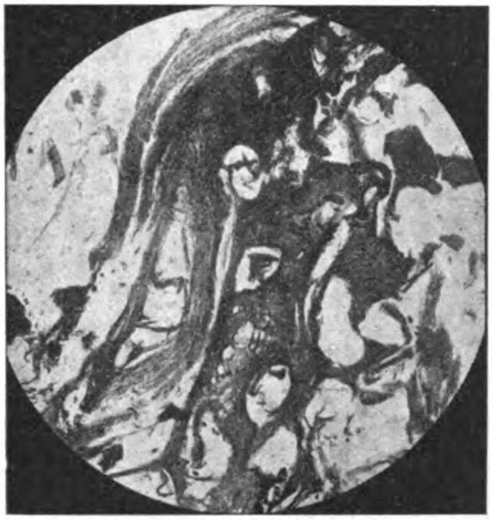


Fig. 17.

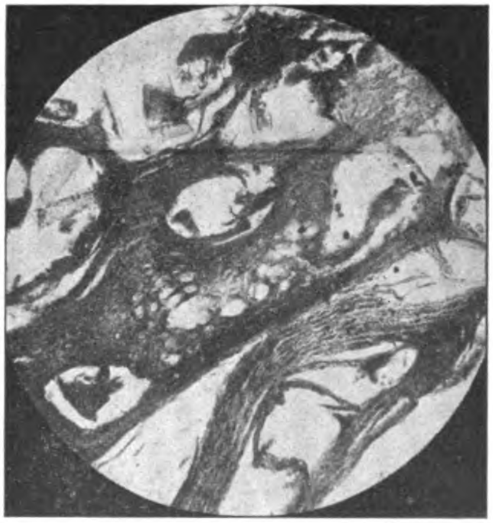


Fig. 18.

Ich kehre nun nochmals zu der Veterinärpathologie zurück.

Fig. 16. Das Gesichtsfeld zeigt das Beinpaar eines Huhnes, das an Kalkbein litt. Vergrößerung 2:1.

Die Beine der Hühner, die in dieser Weise erkrankt sind, erscheinen wie mit Kalk bespritzt. An den betreffenden Stellen haben sich Epitheliome der Haut entwickelt. Nicht selten sterben die an Kalkbeinepitheliomen erkrankten Hühner unter Erscheinungen der Kachexie. Seit langer Zeit ist in der Veterinärpathologie bekannt, daß diese Epitheliome durch Sarcoptes mutans-Milben her-

---

1) Juliusberg gelang es, Mollusca contagiosa durch das Berkefeld-Filtrat des Tumorbreies experimentell hervorzurufen. (Vgl. Deutsch. med. Wochenschr. 1905. No. 40.)

2) l. c. S. 33.

vorgerufen werden. Man findet dieselben in Zupfpräparaten der Kalkbeinepitheliome.

Fig. 17. Schnittpräparat eines Kalkbeinepithelioms. Gieson-Färbung. Vergrößerung 1 : 50.

Das Uebersichtsbild lehrt, daß an der Wucherung dieses Epithelioms das Stratum corneum und Stratum Malpighii Anteil haben. Die fibrillären Faserbündel der Cutis, auf denen das Stratum Malpighii ruht, sind bei den Hühnern nach Art einer Strohmatte durchflochten. In den Maschenräumen des Flechtwerkes findet man die Eier der Sarcoptes mutans-Milbe. Die Milbe selbst können wir in den Schnittpräparaten der Kalkbeinepitheliome nicht nachweisen, weil sie durch die Technik des Einbettens, Schneidens und Färbens zerstört wird.

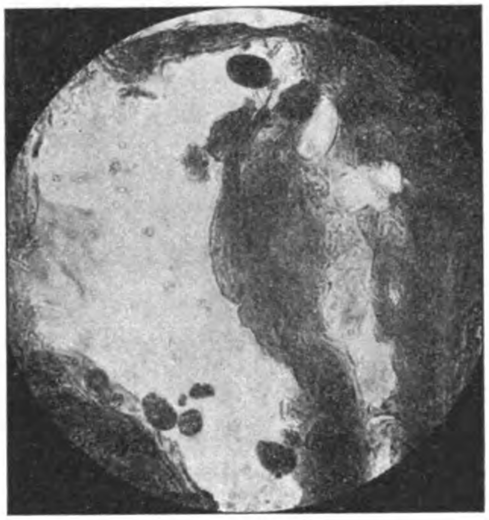


Fig. 19.

Fig. 18. Dasselbe Präparat in stärkerer Vergrößerung (1 : 100).

Das Gesichtsfeld zeigt ausschließlich denjenigen Teil der Pars superficialis der Cutis, in dem die Eier der Sarcoptes mutans-Milbe sich befinden. Während bei den geschwulsterregenden Milben die Eier weit entfernt von der Stelle des Tumors liegen können, findet man sie bei geschwulsterregenden Würmern, z. B. den Bilharzia-Würmern, innerhalb des Tumorgewebes. Es ist daraus zu folgern, daß die Stoffwechselprodukte der Helmintheneier geschwulsterregende Eigenschaften besitzen, nicht hingegen die Stoffwechselprodukte der Milbeneier.

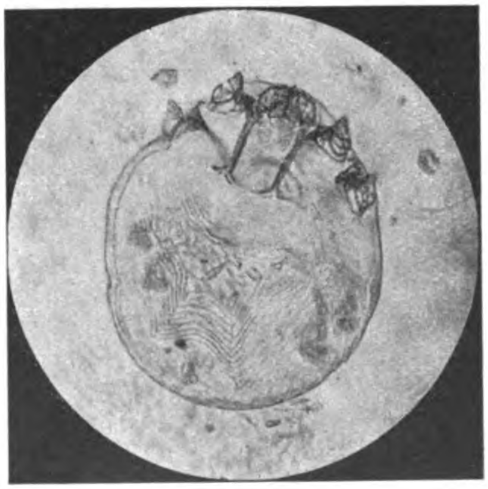


Fig. 20.

Fig. 19. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung (1 : 300).

Die Eier der Sarcoptes mutans-Milbe sind teils homogen, teils granuliert; die granulierten Eier werden am häufigsten nachgewiesen. Da die weiblichen Sarcoptes mutans-Milben an Zahl bei weitem überwiegen, so dürften die granulierten Eier weiblichen, die homogenen männlichen Geschlechtscharakter besitzen.

Fig. 20. Das Gesichtsfeld zeigt eine Sarcoptes mutans-Milbe, die aus dem Kalkbeinepitheliom eines Huhnes durch Zerzupfen isoliert wurde. Das Präparat ist weder fixiert noch gefärbt. Vergrößerung 1:50.

Die Sarcoptes mutans-Milbe gehört zu den Gamasiden. Ihr Stirnfeld ist verhältnismäßig lang und schmal, die Extremitäten sind kurz und dick, distalwärts mit je 2 Krallen bewaffnet. Die Ventralfläche des Thorax zeigt 2 parallele Chitinleisten, der Hinterrand des Rumpfes 2 lange Borsten. Kopf und Rumpf sind zu gemeinsamer Masse verschmolzen. — Robin[1]) hat im Jahre 1860 die Sarcoptes mutans-Milbe des Kalkbeinepithelioms der Hühner entdeckt. — Nach Beobachtungen v. Wasiliewskis[2]) gehen aus den Kalkbeinepitheliomen verhältnismäßig oft Cancroide hervor. Wie bei allen Infektions- und Intoxikationskrankheiten, entscheidet auch hier die individuelle Disposition über die Gutartigkeit oder Bösartigkeit des Krankheitsprozesses.

Nachdruck verboten.

Weitere Angaben über die Unterscheidung der drei Genera Cladothrix, Streptothrix und Actinomyces.

Von Prof. Dr. **W. Rullmann** in München.

Mit 1 Tafel.

Die Durchsicht der neueren Literatur gibt mir Veranlassung, nochmals auf die in No. 36 der München. med. Wochenschr. von 1914 besprochene Frage „der Differenzierung der drei Genera Cladothrix, Streptothrix und Actinomyces“ zurückzukommen.

Daß die lange eingerissene Unsicherheit in der richtigen Bezeichnung obiger 3 Genera noch nicht geschwunden ist, darf in der jetzigen unruhigen Kriegszeit nicht wundernehmen; da wir aber doch allmählich friedlichen Zeiten entgegensehen, sei dieser Gegenstand nochmals in einer rein bakteriologischen Zeitschrift besprochen, um so mehr, als Arbeiten aus jüngster Zeit wieder die gleichen Unstimmigkeiten bringen.

---

1) Mémoire zoolog. etc. (Bull. de la Soc. impériale etc. T. 33. 1860. p. 184 ff.)

2) v. Wasiliewski, Zum Nachweis tierischer Parasiten in Gewebswucherungen. [VI. Tagung d. freien Vereinig. f. Mikrobiol. in Berlin. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Referate. Bd. 54. 1912.)]

Damals hatte ich mich vor Veröffentlichung obiger Arbeit zunächst mit maßgebendsten deutschen Autoritäten in Verbindung gesetzt, um die so lange schwebende Frage mit tunlichster Sicherheit und unter Vorlage beweisenden Materials erst zu besprechen; nach erlangter Zustimmung schritt ich dann zur Veröffentlichung. Daß mir mehrfache Billigungsschreiben der niedergelegten Anschauung zugingen, darf ich wohl anführen.

So ist in der Zeitschr. f. Hyg. in Bd. 82. S. 463—505 eine sehr eingehende Arbeit von H. Reuter „Ueber bakterielle Befunde bei Fleckfieber“ enthalten. Nach einer geschichtlichen Einleitung, in welcher die verschiedenen Befunde der bei Fleckfieberuntersuchungen gefundenen Bakterienarten beschrieben werden, geht Verf. auf die von Petruschky im Danziger Institut mit Sputum Fleckfieberkranker vom Februar 1915 ab ausgeführten Untersuchungen über, bei welchen ein ständig vorkommendes Stäbchen isoliert wurde. Dann dehnte Petruschky seine Untersuchungen auch auf die Organe an Fleckfieber Verstorbener aus, wobei es ihm gelang, in mehreren Fällen aus den verschiedenen Leichenteilen dem zuerst im Sputum gefundenen Stäbchen sehr ähnliche zu züchten. Verf. empfing dann von Petruschky eine Anzahl hieraus rein gezüchteter Stämme, welche Reuter dann in 4 Gruppen einteilte:

1) Stäbchen eines kleinen Typus,
2) Kugelformen,
3) Stäbchen eines größeren Typus und
4) Streptothricheen.

Diesen letzteren wollen wir uns nun zuwenden. Vorher aber muß zur Bequemlichkeit der Leser, um Nachschlagen zu vermeiden, nochmals die Charakteristik der Streptothricheen und Aktinomyceten, wie solche seinerzeit in der eingangs angeführten Nummer der München. med. Wochenschr. niedergelegt sind, tunlichst kurz wiederholt werden, und sei zur Veranschaulichung auf die beigefügten Abbildungen verwiesen. Den jetzt scharf präzisierten Standpunkt über die Eigenart der Streptothrix verdanken wir dem leider so frühe verstorbenen Prof. Harz[1], welchem sich Berestnew, Lubarsch, Gasperini, Lachner-Sandoval u. a. angeschlossen haben. Wenn auch Harz bereits 1890 seine Anschauung hierüber begründet hat, so bedurfte es doch langer Zeit, bis dieselbe in weite Kreise eindrang. — Nach Harz „begründete Corda 1839 die Gattung Streptothrix durch eine Art, Streptothrix fusca Corda. Wie aus Fig. 1 ersichtlich ist, hat man es hier mit einem zweifellosen Schimmelpilz zu tun, aus dessen Mycel sich baumartig verzweigte, aufrechte Hyphen erheben. Diese zeigen meist einen sympodialen Aufbau und tragen teils sitzende, teils gestielte Sporen. Es handelt sich also hier um wirkliche Schimmelpilze, wie Aspergillus glaucus, Penicillium crustaceum u. a. Nun wurde durch mehrere Forscher die entstandene Verwirrung dadurch hervorgerufen, daß sie ganz andere Organismen, Fadenbakterien, als Streptothrix bezeichneten und dabei übersehen haben, daß Corda schon lange Jahre vorher diesen Namen vergeben hatte“. — Wäre die hier beigegebene Fig. 1 aus der Prachtflora für Schimmelpilze (Prag 1839) allgemein bekannt gewesen, dann würde ganz gewiß die Verwirrung keine so ausgedehnte und andauernde geworden sein. — Die vielfach hiermit auch verwechselte Cladothrix aber gehört nach Lehmann-Neumann[1]) zu den Spaltalgen und bildet Fäden und Scheiden mit falscher Verzweigung (Fig. 2). Sobald also eine falsche Verzweigung nachgewiesen ist, kann es sich nur um Cladothrix handeln. — Uebergehend auf die Charakterisierung der Aktinomyceten, führe ich solche derart an, wie ich sie in Lafar[2]) entwickelt habe: „Die Gruppe der Aktinomyceten zeichnet sich bei ihrem Wachstum auf festem Nährboden durch Bildung von erhabenen Kolonien aus, welche von derber Beschaffenheit und mehr oder weniger knorpelig-faltig sind und fest in dem Nährboden anwachsen. Sie bilden sämtlich lange, dünne, gestreckte Mycelfäden mit echten monopodialen Verzweigungen. Die Breite der Fäden beträgt 0,6 μ, die Länge bis 200 μ und mehr. Die verschiedenen Arten unterscheiden sich durch ihr Verhalten auf den verschiedenen Nährböden und wachsen auf diesen unter Bildung oft lebhaft gefärbter Kolonien. Alle nehmen Anilinfarbstoffe gut auf, ganz besonders aber verdünntes Karbolfuchsin, für Differenzierung empfiehlt sich die Gramsche oder Weigertsche Färbemethode. Junge Zuchten zeigen häufig nur unverzweigte Stäbchen, die sich durchaus nicht von gewöhnlichen Spaltpilzen unterscheiden. Die Fortpflanzung erfolgt, außer durch Gonidienfruktifikation, durch Teilung des Fadeninhaltes und Querteilung von Fadenstücken; einzelne Arten zeichnen sich durch ein auffälliges, flockiges Luftmycel aus. In betreff der Fortpflanzung ist Gonidienfruktifikation von größter Wichtigkeit, ebenso ihre Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen und Austrocknen. So ziemlich für alle Actinomyces-Arten ist die mit dem Alter der Zucht sich steigernde, weiße, kreideähnliche Verfärbung (Fig. 3 u. 4) der einzelnen Kolonien charakteristisch, indem sich ein verzweigtes Mycel mit reichlichen Luftfäden bildet; diese Kolonien erhalten sich sehr lange fortpflanzungsfähig. In vielen Fällen unterliegt die Membran der Fäden durch Vergallertung eigenartigen Veränderungen und es entstehen häufig an den Enden und in der Mitte der Fäden keulen- oder kolbenförmige Anschwellungen (Fig. 5), welche als Degenerationserscheinungen anzusehen sind. An dieser Stelle darf wohl noch erwähnt werden, daß der Schreiber dieser Zeilen, als er 1893 den Erreger des Erdgeruches aus Fehlboden isolierte, bei der damals noch nicht so verbreiteten Kenntnis der drei Genera, den ermittelten Fadenpilz fälschlich als Cladothrix odorifera bezeichnete, dann noch unrichtiger als Streptothrix umnannte, bis schließlich die richtige Bezeichnung als Actinomyces odorifer an die Stelle trat (Fig. 6). Die bei diesem Fadenpilz beobachtete Geruchsbildung ist aber eine häufig auftretende Eigenschaft der Aktinomyceten und findet sich bei den nachfolgenden Fällen der Literaturangaben des öfteren die Angabe ‚bildet moderigen oder erdig-schimmeligen Geruch‘.“

---

[1] Harz, Vortrag in der Gesellsch. f. Morphol. u. Physiol. München 1890.

Uebergehend auf die erwähnte Reutersche Arbeit „über den Befund bei Fleckfieber“ ersehen wir auf S. 492—496 bei „D. Streptothrix-Befunde“, daß die mit Lungensputum Fleckfieberkranker be-

---

1) Lehmann-Neumann, Bakteriol. Diagnostik. Neueste Aufl. S. 158, 622 u. 624.

2) Lafar, Techn. Mykologie. 2. Aufl. Bd. 3. Rullmann, S. 198 ff.

schickte Agarplatte reichlich mit einzelnen Kolonien besetzt war, die einen intensiven Geruch ausströmten, der etwa an Schimmel oder an verpilzte Wohnungen erinnerte. Auf Agar zeigten sich nach 24—36 Stunden kleine, zunächst rundliche Knötchen, die sehr fest am Nährboden haften und sich nur mit Mühe losreißen lassen, deren Adhärenz noch mit dem Alter der Kolonien zunimmt. Ferner weiter unten: „auf älteren Agarkolonien, ebenso aber auch auf Gelatineplatten und Kartoffelschalen, etwa von der 3. Woche an (Fig. 7), bildet sich langsam ein kreidiger Belag (Lufthyphen) aus, zunächst auf dem Zentrum, dann etwa 1 mm von der Zentralpartie, in Ringform das Zentrum umgebend. Der kreidige Belag ist bröckelig und läßt sich abheben. Dieselben kreidigen Beläge zeigten sich auf Mannitlackmusagar. Bezüglich der mikroskopischen Bilder wird auf S. 495 hervorgehoben, daß man die einzelnen, welligen, nicht doppelt konturierten, haarförmigen Pilzfäden von wechselnder Länge mit echter Verzweigung sieht. Diese verzweigten Fäden bilden ein echtes Mycel und stellen denjenigen Teil der Kolonie dar, der auf dem festen Nährboden so stark anhaftet und sich nur mit Mühe, und dann nur unter Mitnahme eines Teiles des Substrates, vom Nährboden entfernen läßt. Die einzelnen Verzweigungen schließen einen Winkel von 70—90 Graden ein und sind es demnach echte Verzweigungen.“ — Somit entsprechen alle bisherigen Angaben **Reuters** dem Charakter der Aktinomyceten, und wenn er auf S. 496 erwähnt: „keulenförmige Auftreibung der Fadenglieder, wie sie sich z. B. bei den degenerativen Vorgängen an den Endgliedern der Aktinomyceten zeigt, wurde nirgends nachgewiesen“, dann ist diese Beobachtung noch lange kein Grund, den in Rede stehenden Fadenpilz als Streptothrix zu bezeichnen. Es ist bekannt, daß diese kolbigen Verdickungen nicht immer entstehen und daß es Erscheinungen sind, welche meist nur von Zufälligkeiten abhängen. So hat Verf. dieser Zeilen jahrelang aus Sputum einer Dame einen Fadenpilz [1]) isoliert (zuerst auch fälschlich als Streptothrix bezeichnet), von welchem die Figg. 5 und 8 stammen, der nicht bei jeder Untersuchung auf **Loeffler**schem Blutserum die kolbigen Auftreibungen bildete, sondern diese Degenerationserscheinungen kamen nur zeitweilig vor. — Im Laufe der Untersuchungen werden wir noch mehreren kulturellen Schwankungen begegnen. — **Reuter** gibt dann auf S. 496 weiter an, daß außer den längeren Pilzfäden sich, namentlich bei älteren Kulturen, in reichlicher Menge durch Fragmentation und Segmentation entstandene Stäbchen und Kugelformen zeigen, und daß, wenn man nur mit der Oese leicht über den kreidigen Belag einer Zucht auf einem festen Nährboden hinstreift, man nur die runden, durch Segmentation aus den Lufthyphen entstandenen Gebilde, welche als Sporen, Keimzellen oder Gonidien bezeichnet werden, erhält. Diese bilden dann wieder neue Kolonien mit echtem Pilzmycel, eine Beobachtung, welche unter anderem auch **Lachner-Sandoval** bestätigte. Auf Grund vorstehender Zeilen kann also in diesem Falle **Reuter** sicher nur von Actinomyces gesprochen werden.

Dann führt **Reuter** in seinen Literaturangaben noch mehrere Ar-

---

1) **Rullman**, München. med. Wochenschr. 1898. No. 29; 1899. No. 13 u. 1902. No. 22, und **Bulling** u. **Rullmann**, Berlin. klin. Wochenschr. 1907. No. 42.

beiten aus früherer Zeit an, die auch noch kurz besprochen werden müssen, so unter anderem:

1) Neschczadimenko: „Ueber eine besondere Streptothrix bei der chronischen Eiterung der Menschen“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. S. 573 u. ff.). Dieser Autor bringt eingangs allgemeine Betrachtungen über die oben genannten drei Genera, ohne die einfachen und charakteristischen Unterscheidungen hervorzuheben. Verf. führt auf S. 574, Absatz 2, auch die von mir seinerzeit aus ausgehusteten Körnchen isolierte und beschriebene Kultur von Actinomyces hominis (leider noch unter dem unrichtigen Namen Streptothrix) an. Seine auf S. 575 geschilderte Kultur aus dem Hypochondrium scheint aber, nach der Beschreibung und den nicht sehr charakteristischen Abbildungen, möglicherweise kaum ein Actinomyces, aber noch viel weniger eine Streptothrix zu sein.

2) Ferner Müller, Reiner: „Eine Diphtheridee und eine Streptothrix mit gleichem blauem Farbstoff, sowie Untersuchungen über Streptothrix-Arten im allgemeinen“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. S. 195 u. ff.).

Auf den SS. 195—212 werden Wachstumsverhältnisse und Eigenschaften der 1904 ausgeführten Untersuchungen an der Hand zahlreicher Abbildungen geschildert. Unter letzteren sind die Nummern 2, 3, 5, 11, 15 und 16 ganz besonders charakteristisch für Actinomyces, und auf S. 207 wird auch der stark moderige Geruch der Kulturen hervorgehoben.

3) Schürmann, W.: „Untersuchungen über fünf Streptothrix-Stämme“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. S. 179 u. ff.). Schürmann hat im Verfolge von R. Müllers vorstehend erwähnter Arbeit 5 verschiedenartige Stämme untersucht, welche alle nicht säurefest waren. Nach Vorbehandlung der gut fixierten Präparate mit Chlorcalcium und Färbung mit Neisser trat bei allen Formen das Charakteristische der Fäden hervor. Ebenso war die Körnchenfärbung mit den kleinen, ovalen Sporen und die keulenförmige Anschwellung der Endfäden gut sichtbar. Bei allen Formen aber wurden echte Verzweigungen festgestellt und ebenso die kreidig überzogenen Oberflächenkolonien. Geruch aller Agarkolonien durchweg erdig-moderig; also Actinomyces.

4) Chiarolanza, R.: „Experimenteller Beitrag zur Biologie einer Streptothrix- und Actinomyces-Art“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 53. S. 1 u. ff.). Da die Frage der Biologie über die beiden Genera sehr verworren ist, so verglich Verf. eine aus der Luft isolierte und als pyocyan bezeichnete Streptothrix-Art mit einem von einer menschlichen Erkrankung stammenden Actinomyces in folgenden drei Punkten: 1) Entwicklung auf verschiedenen Nährböden, 2) bilden beide Mikroorganismen Hämolysin und Leukocidin, und 3) welche Veränderungen rufen sie bei gewöhnlichen Versuchstieren hervor.

Hieraus seien folgende Ergebnisse hervorgehoben: Die Eigenschaft der Streptothrix pyocyanea, Eiterungen zu verursachen, ist nicht eine besondere Eigentümlichkeit derselben; sie kommt vielen verschiedenen Streptothricheen zu (so unter anderen der von Ferré und Faguet, Scheele und Petruschky, Berestnew beschriebenen). Dann ist auch sicher erwiesen, daß ein und derselbe Stamm sowohl

Fäden und Strahlenform bilden kann (De Cortes, Gasperini, Burri usw.). Infolgedessen kann weder diese Eigenschaft noch die Verschiedenheit der histologischen Veränderungen eine Differenzierung zwischen Streptothricheen und Aktinomyceten ermöglichen. Ein und derselbe Mikroorganismus kann verschiedene Läsionen bilden. So konnte Gasperini mit einem vom Rinde stammenden Actinomyces albus beim Hunde Abszesse bis zum Granulom und Sarkom ähnlichen Neubildungen erzeugen; Burri bekam mit einem aus Menschen isolierten Aktinomyceten beim Meerschweinchen Abszesse und Septikämie, beim Hunde Strahlenformen. Er spricht sich für die Identität der Fadenform aus der Luft mit der Strahlenform aus, die man oft beim Rinde findet. Ebenso bildet die Cladothrix Eppinger Fadenformen, Strahlenformen, pseudotuberkulöse Abszesse mit Riesenzellen in den Lungen, Gehirn- und Lungenabszesse, käsige Abszesse, Pyämie (Lubarsch, Nakayma, Dessy u. a.). Endlich kommt der Säurefestigkeit ein wirklich differential-diagnostischer Charakter nicht zu, weil es möglich ist, nach besonderem Kulturverfahren einem Mikroben die Säurefestigkeit zu verleihen, die er früher nicht hatte. Sanfelice konnte nachweisen, daß die Tierpassage genügt, um die verlorene Säurefestigkeit wieder hervorzurufen. Besonders betont dann Chiarolanza, daß ihm die Klassifikation von Gasperini zweckmäßig zu sein scheint, Streptothricheen und Aktinomyceten mit dem allgemeinen Namen „Actinomyces“ zu bezeichnen und die oben erwähnte Streptothrix pyocyanea als Actinomyces pyocyaneus anzusehen.

Nun erübrigt sich noch, auf die neueste Auflage von Kolle-Wassermann einzugehen. In dem von Petruschky geschriebenen Teile „Ueber Streptothrix, Cladothrix und Leptothrix“ Bd. 5. S. 267 u. ff. ist zu ersehen, daß auch hier zu wenig Wert auf die genaue Kenntnis des Mikroorganismus gelegt wird, welchen, wie früher erwähnt, Corda im Jahre 1839 Streptothrix fusca Corda benannte. Die hier beigegebene Abbildung dieser wirklichen Streptothrix (Fig. 1) ist leider viel zu wenig bekannt, und nachdem Cohn irrtümlich seinerzeit zuerst den Namen Streptothrix für den im Tränenkanal gefundenen Fadenpilz angewendet hatte, wurde er von vielen anderen Forschern, immer in Unkenntnis der wirklichen Streptothrix, für pathogene und saprophytische Fadenpilze benutzt. — An dieser Stelle sei die Anschauung des Berliner Botanikers Prof. Dr. Benecke angeführt, wie er mir solche vor Veröffentlichung meiner in der München. med. Wochenschrift 1914 enthaltenen Arbeit zugehen ließ. Er schrieb: „Ich bin ganz Ihrer Meinung, daß die Benennung der betreffenden Formen als Aktinomyceten die einzig richtige ist, da sie mit Streptothrix fusca Corda gar nichts zu tun haben. Die Gattung Streptothrix Cohn (Streptothrix Foersteri) ist, das kann man aus der Abbildung (Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanz. Bd. 1. Taf. 5. Fig. 7) wohl mit Bestimmtheit erkennen, ebenfalls ein Aktinomycete, allenfalls könnte es sich auch um ein Mycobacterium handeln. Cohn hat ja seine Form gar nicht zur Gattung Streptothrix Corda rechnen, sondern eine neue Gattung Streptothrix aufstellen wollen, ohne zu wissen, daß dieser Name durch Corda bereits einem „Fungus imperfectus“ gegeben worden war. Ich selbst habe übrigens gelegentlich auch Streptothrix odorifera, thermophila usw. drucken lassen, gebe aber zu, daß dieser Name aus historischen Gründen falsch war.“

Sehen wir auch noch die neueste Auflage von Kolle-Wassermann „Ueber Actinomyces“ an, so finden sich Bd. 5 auf S. 301 u. ff. aus der Feder von M. Schlegel die neuesten Zusammenstellungen, von welchen ich zunächst auf die Abbildung einer Röhrchenkultur auf S. 313 aufmerksam mache, die in unzweideutigster Weise auf die völlige Gleichheit mit meiner 1893 angelegten Kultur (Fig. 4) hinweist; damals war es mir gelungen, den Erreger des Erdgeruches aus Fehlboden zu isolieren und fehlerhafterweise war solcher als Cladothrix odorifera, dann als Streptothrix bezeichnet worden, während es ein echter Aktinomycete ist.

Die vorher angeführte Mitteilung von Prof. Benecke-Berlin findet in Kolle-Wassermann Bd. 5. S. 302 volle Bestätigung, indem es da heißt: „Nachdem später F. Cohn den im Tränenröhrchen in Form von Körnern aufgefundenen, dem Actinomyces ähnlichen Pilz Streptothrix Foersteri genannt hatte, wurden die Aktinomyceten, die doch eine festgefügte Gruppe für sich bilden, irrtümlich als Cladothrix oder Streptothrix bezeichnet.“ — Berestnew[1] hat seinerzeit zur Klassifikation der Aktinomyceten 3 Abteilungen aufgestellt: 1) typische Aktinomykose, hervorgerufen durch Pilze vom Genus Actinomyces, als Körner im Eiter und im Gewebe als Haufen liegend, 2) atypische Aktinomykose, auch durch Formen des Genus Actinomyces verursacht, aber im Eiter keine Körner bildend und im Gewebe einzeln, nicht in Haufen liegend, 3) Pseudoaktinomykose, durch Bakterien bedingt, welche anderen Gruppen angehören. Ferner sei noch hervorgehoben, daß mit den Strahlenpilzen die Tuberkelbacillen, Lepra-, Diphtherie- und Rotzbacillen, bei welchen ebenfalls Fadenbildungen mit Verzweigungen, kolbigen Anschwellungen und strahlenartigen Anordnungen nachgewiesen werden, nahe verwandt sind. Die verschiedenartigen Farbstoffbildungen der einzelnen Aktinomyceten sind ja allseits bekannt. Nach einzelnen Forschern behält der Pilz in Kulturen das verzweigte, fadenförmige Aussehen wie im lebenden Körper bei, während nach anderen der Pilz veränderlich, als kurzes Doppelstäbchen ohne Verzweigung oder als kurze Fäden mit und ohne kolbige Anschwellungen auswächst; bald sind die Pilze leicht und schnell, bald schwer und langsam kultivierbar, bald chromogen, bald nur bei + 37° C, bald bei + 20° auf Gelatine, diese peptonisierend, aber auch nicht verflüssigend. — Ganz besonders dienen die eben gemachten Angaben zur Aufklärung mancher unter Umständen bei Einzelnbeschreibungen aufsteigenden Zweifel von Arten dieser Gruppe bezüglich der Richtigkeit. Auch noch manche weiteren in Kolle-Wassermann II enthaltenen Anhaltspunkte dürften zu der bestimmten Differenzierung der in Frage stehenden 3 Genera beitragen können. — Es kann aber wohl auf Grund der hier vorliegenden Ausführungen angenommen werden, daß, da nur ein wirklicher Vertreter der Gattung Streptothrix in der Streptothrix fusca Corda existiert, alle anderen Mikroorganismen fälschlich mit diesem Namen bezeichnet worden sind, und wiederholt sei betont, daß bei

---

[1] Berestnew, Dissertation. Moskau 1897. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 26. 1898. S. 706 u. ff.

allgemeinerer Kenntnis der Abbildung (Fig. 1) von Streptothrix
Corda solche allein schon zur Vermeidung der Irrtümer beige
hätte und bereits begangene Fehler schon früher erkannt worden

Tafelerklärung.

Fig. 1. Streptothrix fusca Corda.

Fig 2. Cladothrix dichotoma Cohn. Deckglaspräparat aus 5-tägige
in Bouillon von Dr. Hoeflich. Oelimmersion $^1/_{12}$ Zeiß. 1000-fach vergrößert
nahme von Dr. Rülke. *a* = aus der Scheide frei gewordene, zu neuen Fäd
wachsende Glieder, *b* = noch in der Scheide befindliche Glieder, *c* = entleerte S

Die Figuren 3, 4a, 4b, 6, 7a und 7b sind von Actinomyces odorife

Fig. 3. Kolonien auf Kartoffelscheibe. 1:1.

Fig. 4a. „ „ schieferstarrtem Blutserum. 1:1.

Fig. 4b. „ „ „ Agar-Agar. 1:1.

Fig. 6. Deckglaspräparat. 1000:1.

Fig. 7a. Gelatinekultur in flachen Schälchen. 1:1. 5 Tage alt.

Fig. 7b. Gelatineplattenkultur, einzeln liegend, 48 Stunden alt. 20:1.

Die Figuren 5a, 5b und 8 sind von Actinomyces hominis:

Fig. 5a. Kolbige Verdickungen; nach Zeichnung aufgenommen.

Fig. 5b. Keulen- und kolbenförmige Anschwellungen mit Fragmentation
nungen.

Fig. 8. Auf Blutserum verzweigte Formen; nach Zeichnung aufgenomme

Quellenangaben der Figuren:

Fig. 1 aus Prachtflora der Schimmelpilze, Prag 1839.

Fig. 5b aus der Bakteriologischen Diagnostik von Lehmann und Neu

Alle übrigen Figuren sind nach meinen eigenen Präparaten und Kulturen
nommen, bzw. gezeichnet worden.

Nachdruck verb

Eine Darminfektion des Menschen, verursacht durch Hühnercholerabacillus.

[Aus dem Laboratorium des k. u. k. Reservespitals in Trencsén (U
Spitalskommandant: Dr. Michael Martynowicz, Generalstab

Von Dr. **W. v. Boèr,**

Assistenten im Pathol.-anat. Institut der K. ungarischen Universität zu Bud
zurzeit zugeteilt dem Laboratorium des obigen Reservespitals.

Mit 1 Tafel und 3 Textfiguren.

Ich möchte hier über eine außergewöhnliche Infektion des
schen berichten, die durch den Erreger der Hühnercholera, **Bac**
avisepticus, verursacht ist. Da es hier wohl überflüssig ist, a
genannte Krankheit der verschiedenen Vogelarten näher einzu

möchte ich nur kurz an die Eigenschaften des genannten Mikroorganismus erinnern. Er ist ein kurzer plumper, unbeweglicher Bacillus mit abgerundeten Kanten, zeigt deutliche Polarfärbung und läßt sich nach Gram nicht färben, und bildet im tierischen Organismus eine Kapsel. Charakteristisch ist seine starke Toxizität gegenüber verschiedenen Geflügelarten und Kaninchen. Künstlich läßt sich der Bacillus auf dem gewöhnlichen Nährboden leicht züchten.

Zurzeit ist in den meisten Gegenden Ungarns die Geflügelcholera weit verbreitet. Ich habe bereits im Frühjahr die Krankheit unter den Gänsen der Geflügelbestände des Trencséner Reservespitals beobachtet; seither kommen auch in der Umgebung Fälle vor.

In einem Falle hatte ich Gelegenheit, zu beobachten, daß der Bacillus avisepticus auch für den Menschen pathogen ist, wobei die heftigsten Magendarmerscheinungen aufgetreten sind. In diesem Falle konnte durch serologische Untersuchungen der Beweis erbracht werden, daß diese Bazillen die Erkrankung verursacht haben, und nicht als Saprophyten den Darmkanal bewohnt hatten.

Die Krankheitsgeschichte war folgende: Der 32-jährige, hochgewachsene, robuste Mann, russischer Kriegsgefangener, gibt an, vor 2 Tagen plötzlich erkrankt zu sein. Es traten bei ihm Schüttelfrost, häufiges Erbrechen und starker Durchfall auf. Auf Befragen erzählt Pat., daß er keine besonderen Nahrungsmittel zu sich genommen, sondern dieselbe Menage bekommen habe wie seine Kameraden. Er klagt über Schmerzen im Unterleibe und fühlt sich sehr schwach. Bei der Untersuchung wurde die Milz etwas vergrößert gefunden (oben Dämpfung bis zur 8. Rippe, unten eben tastbar). Abdomen stark aufgetrieben, bei Betasten schmerzhaft, wobei die stark gefüllten Darmschlingen ein gurrendes Geräusch geben. Keine Roseolen oder anders geartete Exantheme, die Organe des Brustkorbes normal. Im Harn kein Eiweiß, Diazoreaktion negativ. Der erbrochene Mageninhalt ist grünlich, dünnflüssig, der Stuhl wässerig, von grünlicher Farbe, enthält kein Blut. Temperatur 39,4°, Puls frequent. Erbrechen und Durchfall erfolgt beinahe andauernd. Auf Grund dieser Symptome wurde an eine zur Paratyphusgruppe gehörige Erkrankung gedacht, die asiatische Cholera, woran das klinische Bild erinnerte, konnte wegen des hohen Fiebers ausgeschlossen werden.

Es wurde sofort die bakteriologische Stuhluntersuchung vorgenommen. Wie gewöhnlich bei Verdacht auf eine zur Typhusgruppe gehörigen Erkrankung, habe ich auf Endo- und Drigalskischen Nährböden ausgesät, aber auch in Peptonwasser und Bouillon geimpft. Ein ganz außergewöhnliches Bild boten die aus dem Stuhl gefertigten Ausstrichpräparate. Mit Fuchsinfärbung zeigen sich namentlich in großen Mengen plumpe, polar gefärbte, kurze Bazillen mit abgerundeten Kanten, welche meistens Ketten zu 8—10 Gliedern oder kleine Gruppen bilden. Die Bazillen besitzen eine sehr große Kapsel, welche im Tusche-Fuchsinpräparat die Dicke der Bazillen mindestens zweimal übertrifft. Die Gruppen lagern sich öfters in einer gemeinsamen Kapsel, einer Zoogloeabildung ähnlich.

Die hier beschriebenen Bazillen erinnerten auf den ersten Blick an den Erreger der Hühnercholera, auffallend aber waren die Kettenbildungen und die ungewöhnlich großen Kapseln. Namentlich in Blut- oder Organausstrichpräparaten von zugrunde gegangenen Hühnern ist sonst niemals Kettenbildung zu finden, auch Diplobazillen sieht man nur selten; die Kapsel ist ebenfalls viel kleiner, desgleichen fehlen Zoogloeaformen. Die bipolaren Bazillen im Stuhlpräparat waren gramnegativ und bewegten sich nicht im hängenden Tropfen. Außer diesen Bazillen fand ich noch einige dünne, lange Stäbchen mit lebhafter Eigenbewegung.

Rasch bewegliche Vibrionen (Cholera asiatica) waren nicht zu sehen, sondern das Bild wurde von den beschriebenen, polar gefärbten Bazillen beherrscht (Fig. 1).

Da in der Gegend die Hühnercholera herrschte, habe ich die Infektion mit dem **Bacillus avisepticus** für möglich gehalten, und die Stuhluntersuchung auch in dieser Richtung weitergeführt.

Am nächsten Tage waren die **Endo-** und **Drigalskischen** Nährböden mit kleinen durchsichtigen, farblosen resp. blauen Kolonien zwischen den roten Kolonien des **Bacillus coli** bedeckt. Die erstgenannten Kolonien wurden meistens von kleinen, gramnegativen Bazillen mit gut erkennbarer Polarfärbung gebildet, andere sehr kleine, blaue resp. farblose Kolonien bestanden aus Staphylokokken. Da nicht genügend viele Kolonien bipolarer Bazillen zur Anstellung eines Tierversuches vorhanden waren, wurden einzelne verdächtige Kolonien auf Nähragar so überimpft, daß einige Tropfen einer Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung auf Platten ausgesät wurden. Nach einem Tage haben sich sehr viele durchsichtige, etwas grauliche Kolonien gebildet, von $1^1/_2$—2 mm Durchmesser, an den meisten Platten vermischt mit nadelstichgroßen Kolonien von Staphylokokken. An der einen Agarplatte waren nur größere, durchsichtige Kolonien vorhanden, welche durch bipolare, kurze Bazillen gebildet wurden. Ich habe also nach 1-maliger Ueberimpfung die im Stuhle des Pat. vorhandenen, auf Hühnercholera verdächtigen Bazillen in Reinkultur bekommen.

Fig. 1.

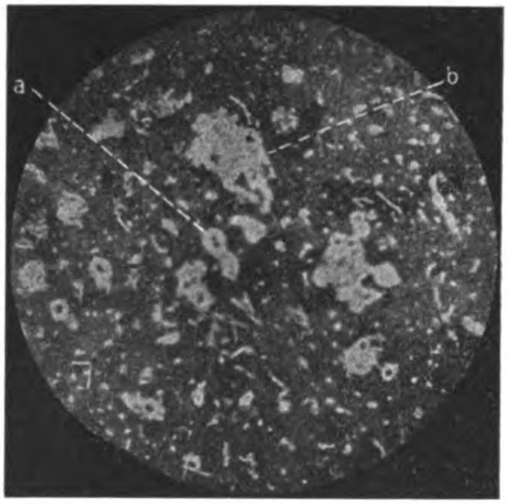


Fig. 2.

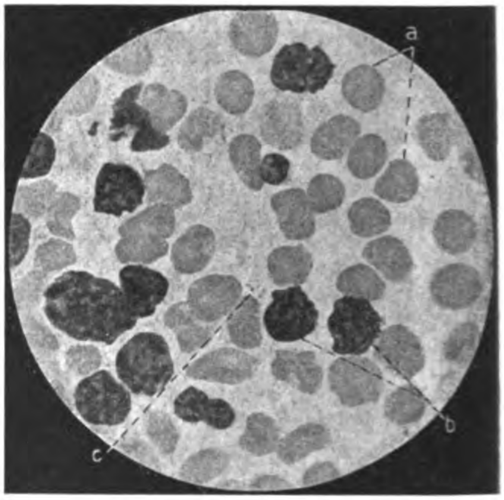


Fig. 1. Hühnercholerabazillen im Darminhalt des Menschen. a) Bipolare gekapselte Bazillen, b) Zoogleaform. Tuschpräparat, nachgefärbt mit Fuchsin. **Zeiß** hom. imm. $^1/_{12}$ Okular 4.

Fig. 2. Strichpräparat aus der Leber des Kaninchens. a) rote Blutkörperchen, b) weiße Blutkörperchen, c) Hühnercholerabazillen. Giemsafärbung. **Zeiß** hom. imm. $^1/_{12}$ Okular 4.

In der vom Stuhl angelegten Bouillonkultur zeigte sich tags darauf eine gleichmäßige Trübung. Unter dem Mikroskop zeigten sich viele, charakteristische, polar gefärbte Bazillen, außerdem Staphylokokken und lange, bewegliche Bazillen. Aus dieser Bouillonkultur wurden ebenfalls Agarplatten geimpft, die Kulturen bestanden aus bipolaren, kleinen Bazillen.

Außerdem wurde 0,5 ccm der Bouillonkultur einem starken Kaninchen (Gewicht 4 kg) in die Ohrvene injiziert. Nach 24 Stunden wurde das Versuchstier krank, bewegte sich kaum, fraß nicht, Temperatur 39,3°. Nach 48 Stunden war es bereits zugrunde gegangen. Bei der nach 5 Stunden vorgenommenen Sektion zeigte sich der Darm stark injiziert; in den Unterlappen beider Lungen mehrere linsengroße, konsistente, durchblutete Bezirke mit scharf umschriebenen Rändern. Milz stark geschwollen, sehr blutreich, Leber desgleichen. Es wurden Ausstrichpräparate mit Karbolmethylenblau- oder Giemsa-Färbung aus Leber, Milz und vom Herzblut hergestellt. Sämtliche Präparate enthielten die charakteristischen, bipolaren Bazillen in großen Mengen (Fig. 2). Es haben sich also von der injizierten gemischten Bouillonkultur nur die verdächtigen bipolaren Bazillen weiterentwickelt, was für die starke Virulenz und Pathogenität derselben auf das Kaninchen spricht.

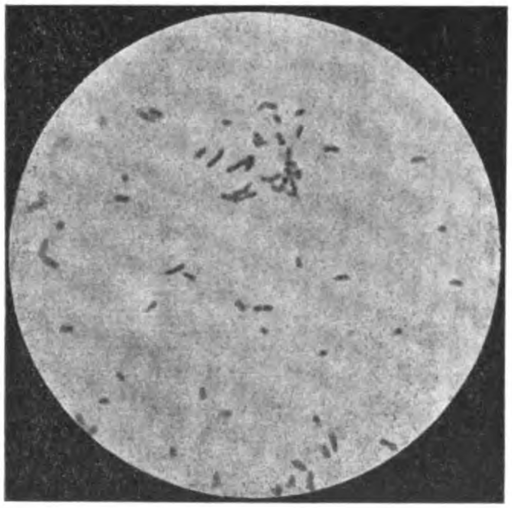


Fig. 3. Bouillonreinkultur aus dem Blute der Taube. Giemsafärbung. Zeiß hom. imm. $^1/_{12}$ Okular 4.

Aus Leber, Milz und Herzblut des Kaninchens wurde je eine Schiefagar- und Bouillonkultur angelegt. Am nächsten Tage waren alle 3 Agarkulturen mit vielen charakteristischen Kolonien besetzt, unter denen sich aber auch einige aus dichtem, grauem Belag bestehende Kolonien befanden. Die letzteren bestanden aus grampositiven, großen Bazillen, wohl Zersetzungskeime? Ihr Erscheinen in den Kulturen ist leicht zu verstehen, wenn man bedenkt, daß die Kulturen erst 5 Stunden nach dem Ableben des Kaninchens angelegt worden waren, die Leiche aber im geheizten Zimmer aufbewahrt war, so daß der genannte Zeitraum zum Eindringen von Zersetzungskeimen in das Blut und in die blutreichen Organe genügt hatte. Der Kaninchenversuch mit der Sektion und dem bakteriologischen Befund zeigt, daß das Versuchstier einer durch den Bac. avicepticus verursachten Septikämie erlegen ist.

Aus der vom Kaninchenherzblut gewonnenen Agarkultur wurde eine Kochsalzemulsion hergestellt, und davon wurden 0,3 ccm in die Flügelvene einer erwachsenen Taube injiziert. Nach 24 Stunden hat die Taube Durchfall, nach 38 Stunden war sie tot. Die Sektion zeigt das bekannte Bild der Geflügelcholera: Die Darmschleimhaut hyperämisch, samtartig gedunsen, zerstreut nadelstichartige, kleine Blutungen. Der Darminhalt ist weißlichgrau, wie Rahm. Milz, Leber und Nieren sind blutreich und geschwollen. In der Leber gelbe (fettig degenerierte) Flecken. Im Herzbeutel trübe Flüssigkeit, am Herzen subperikardiale, punktförmige Blutungen. In den Ausstrichpräparaten aus Leber, Milz und Nieren finden sich die polar gefärbten, gekapselten Hühnercholerabazillen, desgleichen im Blut und Perikardialexsudat. Aus dem Blute und Exsudat sowie der Milz gemachte Impfungen enthalten die bipolaren Bazillen in Reinkultur (Fig. 3). Die infizierte Taube ist demnach an Geflügelcholera eingegangen, aus den Organen derselben konnten die Hühnercholerabazillen in Reinkultur gezüchtet werden.

Durch sämtliche Kulturversuche und die beiden Tierversuche ist einwandsfrei bewiesen, daß, die im Darminhalte des Kranken gefundenen bipolaren Bazillen dem Bac. avisepticus entsprechen.

Da bei den kranken Hühnern die bipolaren Bazillen im Blute stets zu finden sind, habe ich versucht, die Bazillen aus dem Blute des Pat. zu züchten, zu welchem Zwecke die Vena mediana punktiert und das Blut in Bouillon und auf Schiefagar geimpft wurde. Diese Kulturen blieben aber vollständig steril. Dieser Versuch beweist jedoch nicht, daß bei dem Pat. die Bazillen nicht in den Blutkreislauf gelangt sind, denn das Blut wurde erst nach der Deferveszenz untersucht, zu welcher Zeit schon die vorher eventuell bestandene Bakteriämie verschwunden sein konnte.

Weiter habe ich das Verhalten der Hühnercholerabazillen im Darminhalte des Pat. verfolgt. Am 2. und 3. Tage der Beobachtung waren die charakteristischen Bazillen in Ausstrichpräparaten massenhaft vorhanden. Die nach 1 Woche und 1 Monate vorgenommenen Kulturversuche ergaben ein negatives Resultat, auch das beschriebene Bild des Stuhlausstrichpräparates war gänzlich verschwunden. Der Kranke war demzufolge kein Dauerausscheider.

Der Ablauf der Erkrankung gestaltete sich folgendermaßen: Am 2. Tage der Beobachtung, also am 4. der Erkrankung, entfieberte der Kranke kritisch, Erbrechen und Durchfall bestanden trotzdem weiter. Am selben Tage ist die Milzvergrößerung noch gut wahrnehmbar. Am 5. Tage fieberfrei, Erbrechen und Durchfall in geringerem Grade vorhanden. Am 6. Tage blieben diese Symptome auch weg, und der Pat. konnte nach einigen Tagen Bettruhe als geheilt betrachtet werden.

Bei einer späteren Nachfrage wurde festgestellt, daß der Mann als Maurer mit der Reinigung und Ausbesserung mehrerer Hühnerställe beschäftigt gewesen war. In der Gegend, in der er arbeitete, sind viele Hühner eingegangen, er speziell wurde zwecks Verhütung der Geflügelseuche mit der Reinigung der Hühnerställe beauftragt. Geflügelfleisch hatte er angeblich seit langer Zeit nicht genossen.

Nachdem bereits festgestellt war, daß die im Stuhle des Kranken befindlichen Bazillen mit dem Hühnercholeraerreger identisch sind, mußte noch die Frage beantwortet werden, ob diese Bazillen die Erreger oder nur unschädliche Saprophyten des Darmkanals waren.

Zur Beantwortung dieser Frage habe ich zuerst die Agglutination herangezogen. Der Versuch wurde mit in Petri-Schalen deponierten Tropfen mit 10-, 20-, 40-, 60- und 100-fach verdünntem Krankenserum gemacht und mit einer aus Reinkultur des Bacillus avisepticus hergestellten Emulsion[1]). Die Agglutination war komplett mit 10-, 20- und 40-facher Verdünnnung, d. h. auf schwarzem Grund, mit bloßen Augen betrachtet, enthält der Tropfen die bekannten Haufen, sonst ist das Wasser ganz klar. Mit 60-facher Verdünnung ist die Agglutination partiell, d. h. die Flüssigkeit ist bei dieser Verdünnung nicht vollständig klar, doch sind in der Mitte kleine Haufen mit Lupenvergrößerung gut zu sehen.

Als Kontrolle wurde einerseits eine Emulsion mit Kochsalzlösung, anderseits gleich verdünntes Menschenserum von 2 gesunden Männern verwendet. Die so angestellten Kontrollen waren alle negativ, die Tropfen sind ganz homogen geblieben. Die benutzten Hühnercholerabazillen zeigen also keine Selbstagglutination, anderseits werden sie von normalem Menschenserum nicht agglutiniert. Die Agglutination entwickelte sich in $1^1/_2$ Stunde bei 37° Temperatur und änderte sich nach längerem Stehen nicht. Der beschriebene Versuch wird von mir als spezifische Agglutination aufgefaßt. Die Agglutination gelingt zwar nur bis zur 60-fachen Verdünnung, doch zeigte dieselbe Emulsion gar keine Haufenbildung mit Normalmenschenserum.

Mittels der Komplementablenkungsmethode zeigte sich eine spezifische Antigen-Antikörperreaktion.

Die Reaktion wurde mit $^1/_2$ Stunde lang bei 56° inaktiviertem Blutserum des Kranken und mit frisch entnommenem Meerschweinchenserum als Komplement gemacht; als Antigen wurden von der Reinkultur der Hühnercholerabazillen hergestellte Extrakte benutzt. Zuerst wurde ein alkoholisches Extrakt verwendet, dessen Herstellung folgendermaßen geschah:

Mit einer dichten, wässerigen Lösung wurde Alkohol abs. im Verhältnis 1:9 gemischt, die Mischung $^3/_4$ Stunde lang geschüttelt, dann 24 Stunden stehen gelassen. Von diesem Extrakt wurden abnehmende Dosen mit konstanten Dosen von Serum und Komplement verwendet, nachdem die allein bindende Dosis des Antigens bestimmt war. Die Resultate zeigen die folgenden Tabellen:

Versuche zur Bestimmung der Maximaldosis des Antigens:

Antigen	Komplement	Resultat	Antigen	Komplement	Resultat
$^1/_4$	1	—	$1^1/_2$	1	—
$^1/_2$	1	—	2	1	—
$^3/_4$	1	—	$2^1/_2$	1	±
1	1	—	3	1	—

Resultate des Hauptversuches:

Krankenserum	Komplement	Antigen	Resultat
2	1	$^1/_4$	—
2	1	$^1/_2$	±
2	1	$^3/_4$	±
2	1	1	+
2	1	$1^1/_2$	++
2	1	2	++

Aus diesen Tabellen folgt, daß das Antigen selbst nur mit der Dosis 3 gebunden hat, dagegen bei dem Hauptversuch bereits mit $^1/_2$

---

[1] Diese Kultur wurde aus einer verendeten Gans gezüchtet.

sich eine Hemmung zeigte. Das letztere Quantum ist nur $\frac{1}{6}$ der Maximaldosis.

Mit *wässerigem Extrakt* habe ich ebenfalls Hemmung bekommen. Als solches wurde die durch Zentrifugieren gewonnene, klare Flüssigkeit einer älteren Bouillonkultur benutzt.

Resultate der Maximaldosisbestimmung des wässerigen Extraktes:

Antigen:	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{3}{4}$	1	$1\frac{1}{2}$	2	3	5
Komplement:	1	1	1	1	1	1	1	1
Resultat:	—	—	±	±	+	+	++	++

Es war also $\frac{1}{2}$ die größte verwendbare Dosis dieses wässerigen Extraktes.

Zum Hauptversuch habe ich Bruchteile dieser Quantität benutzt:

Krankenserum	Komplement	Antigen	Resultat
2	1	$\frac{1}{2}$	++
2	1	$\frac{1}{4}$	+
2	1	$\frac{1}{6}$	+
2	1	$\frac{1}{8}$	±
2	1	$\frac{1}{10}$	—
2	1	$\frac{1}{12}$	—

Auch in diesem Falle zeigte sich Komplementablenkung mit ganz kleinen Bruchteilen der Maximaldosis des Antigens.

Mit dem wässerigen Extrakt wurde die Reaktion auch in der Weise durchgeführt, daß verschiedene Mengen des Krankenserums genommen wurden, mit konstantem Quantum Antigen und Komplement. Die Resultate waren auch jetzt übereinstimmend, indem mit kleineren und größeren Dosen des Serums sich Hemmung zeigte, naturgemäß innerhalb gewisser Grenzen (Minimum $1\frac{1}{2}$, Maximum 3).

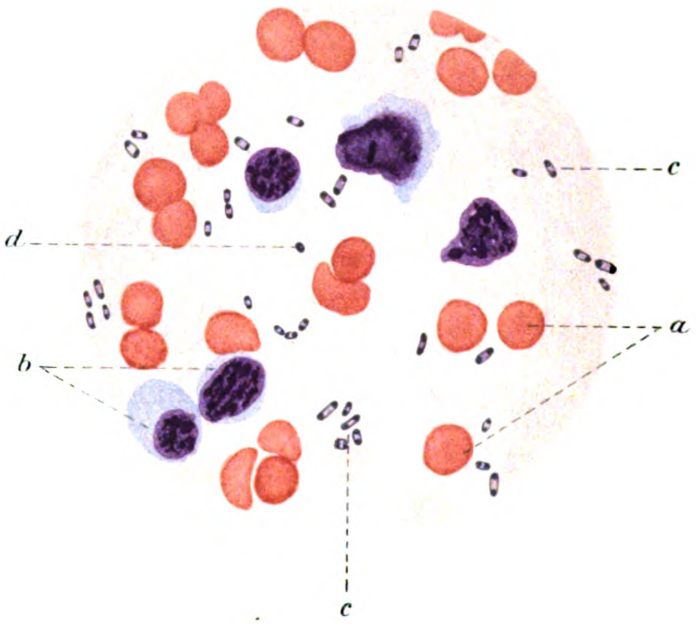
Als Methode wurde das von *Detre* angegebene Verfahren angewandt, indem die Proben in kleinen, 0,50 ccm fassenden Eprouvetten in einer Gesamtmenge von 0,30 ccm angelegt wurden. Als hämolytisches System dienten gewaschene Rinderblutkörperchen in 5-proz. Aufschwemmung und darauf eingestelltem Ambozeptor, letzterer war immer dermaßen verdünnt, daß sich binnen 10 Minuten eine komplette Hämolyse zeigte. (Die Zahlenangaben der Tabellen beziehen sich auf 0,01 ccm.)

Da in diesen Proben mit verschiedenerweise hergestellten Antigenen, und zwar mit fallenden Dosen derselben, Hemmung zu beobachten war, betrachte ich die Resultate als *spezifische Antigen-Antikörperreaktion*.

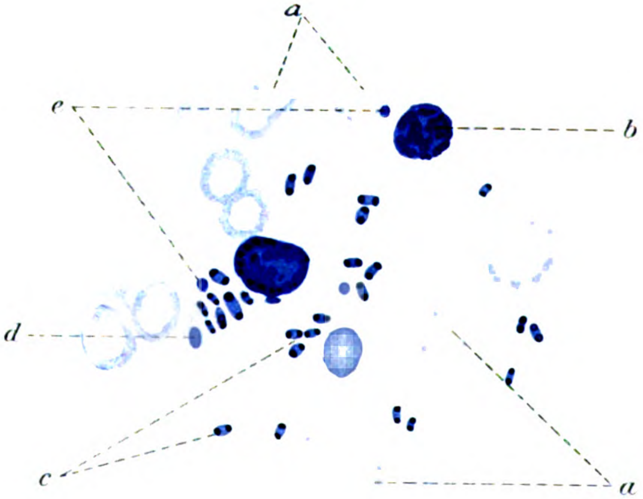
Die beschriebenen serologischen Versuche zeigen, daß der Hühnercholerabacillus in diesem Falle als Antigen bei dem Kranken gewirkt hat. Wenn das auch mit der pathogenen Wirkung nicht identisch ist, so ist doch daraus zu ersehen, daß die fraglichen Bazillen mit dem kranken Organismus in immunisatorischer Wechselwirkung stehen, welche (abgesehen von künstlichen Versuchen) nur unter Wirkung von pathogenen Bakterien zustande kommen. Die Pathogenität ist ja bekanntlich direkt nicht zu bestimmen, sondern nur aus ihrer Wirkung zu erkennen. Aber die pathogene Wirkung kann da angenommen werden, wo ihr gleichkommende biologische Veränderungen (Agglutination, Komplementablenkung) unter denselben Bedingungen zustande gekommen sind.

Centralblatt für Bakteriologie Abtlg. I Orig. Bd. 79. **W. v. Boër,** *Hühnercholerabazillus.*

1.



2.



Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

In der Literatur erwähnen **Rigler** und **Kolle** und **Hetsch** in ihren Lehrbüchern, daß Tierärzte sich mit Reinkulturen der Hühnercholerabazillen infiziert haben, wonach sie an Durchfall und Erbrechen erkrankten.

Kitt zitiert die Aufzeichnungen von **Zürn** und **Willach**, die letzteren Autoren geben an, daß nach Genuß von Fleisch an Hühnercholera verendeten Geflügels Erbrechen auftrat. Aber in diesen Fällen war nicht zu entscheiden, ob nur der später entstandene Ekel gewirkt hat, oder ob eine Infektion vorlag. Da ich in dem beschriebenen Falle Gelegenheit hatte, die pathogene Wirkung des Hühnercholerabacillus beim Menschen zu konstatieren, nehme ich an, daß obige Fälle auch durch denselben Bacillus verursachte Erkrankungen waren. Leider konnte ich die große Literatur über Hühnercholera nicht gründlich durchsehen wegen meiner Kriegseinteilung, und kann daher etwaige andere, schon bekannte Fälle mit den hier zitierten nicht vergleichen.

Epikrise: Es hatte sich beim Menschen eine mit heftigem Erbrechen und Durchfall gekennzeichnete, akute Magendarmerkrankung ereignet, verursacht durch den **Bacillus avisepticus**. Die Erkrankung begann mit Schüttelfrost, dann zeigten sich choleraartige Symptome. Das Fieber war kontinuierlich hoch, am 4. Tage kritische Deferveszenz, die Magendarmerscheinungen dauerten weiter an. Nach weiteren 2 Tagen rasche Besserung des Zustandes. Der Darminhalt des Kranken enthielt eine kleine plumpe, polargefärbte, sehr große, Kapseln bildende, gramnegative, nicht bewegliche Bazillenart.

Diese Bazillen erwiesen sich kulturell und im Tierversuch als Hühnercholerabacillus. Andere pathogene Keime enthielt der Stuhl des Kranken nicht. Die gezüchteten Hühnercholerabazillen gaben mit dem Krankenserum eine spezifische Agglutination, aus den Reinkulturen hergestelltes Antigen gab mit dem inaktivierten Krankenserum die Komplementablenkungsreaktion.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die bei dem Menschen vorgekommene beschriebene Erkrankung durch die aus dem Darminhalt gezüchteten Bazillen verursacht worden ist, diese Bazillen aber erwiesen sich kulturell und biologisch als Hühnercholerabazillen.

Die Infektion kam wahrscheinlich beim Reinigen der Hühnerställe von erkrankten Geflügelbeständen zustande.

Zum Schlusse möchte ich dem Herrn Generalstabsarzt Dr. **Martynowicz**, der mir Gelegenheit zur Arbeit im Laboratorium geboten hat, meinen innigsten Dank aussprechen.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Blutausstrichpräparat vom Kaninchen. Giemsa-Färbung. *a* rote Blutkörperchen, *b* weiße Blutkörperchen, *c* bipolare Bazillen, *d* coccusartiger Bacillus.

Fig. 2. Ausstrichpräparat aus der Leber des Kaninchens. Karbolmethylenblaufärbung. *a* rote Blutkörperchen, *b* weiße Blutkörperchen, *c* bipolare Bazillen, *d* großer Bacillus mit homogener Färbung, *e* coccusartige Bazillen. (G. C.)

Nachdruck verboten.

Versuche über die Desinfektion von Eisenbahnwagen nach dem Schneidtschen Verfahren.

[Aus der Hyg.-bakteriologischen Untersuchungsstelle des Reservelazarettes Nürnberg I.

Von

Prof. Dr. **Ludwig Lange,** und Dr. **E. Werz,**
Stabsarzt d. R. Oberapotheker auf Kriegsdauer.

Mit 4 Figuren im Text.

Die Desinfektion der Eisenbahnwagen ist eine Aufgabe, deren Lösung sich eine Reihe von Schwierigkeiten entgegenstellen. Diese sind einerseits in der Eigenart des zu entseuchenden Gegenstandes begründet: Der Raum besitzt eine für die gleichmäßige Verteilung des desinfizierenden Stoffes recht ungünstige Form; die innere Einrichtung bringt eine große Zahl von Ecken und Winkeln mit sich. Die Temperaturverhältnisse sind schwer in der Hand zu halten wegen der großen Wärmedurchlässigkeit der Umhüllung. Andererseits liegen Schwierigkeiten dann vor, wenn in möglichst kurzer Zeit eine größere Zahl von Eisenbahnwagen entseucht werden soll, wie dies bei den Lazarettzügen, besonders den sogenannten Seuchenzügen, der Fall ist.

Die mechanische Desinfektion reicht nicht aus, ist zeitraubend, kostspielig und für den Desinfektor nicht ganz ungefährlich.

Die Formalindesinfektion, wie sie in Uebertragung der Zimmerdesinfektion auf Eisenbahnwagen häufig ausgeführt wird, kostet ebenfalls sehr viel Zeit; für jeden Wagen sind 2 Apparate nötig, die während der ganzen Einwirkungsdauer für andere Benützung ausgeschaltet sind. Der Desinfektionserfolg ist unbefriedigend.

Die Vakuumformalindesinfektion, die, in Apparaten angewandt, so große einzigartige Vorzüge besitzt, wurde ebenfalls zur Desinfektion von Eisenbahnwagen nutzbar zu machen versucht. Der ganze Wagen kommt in eine luftdicht zu verschließende Kammer, in der dann das Vakuum erzeugt wird. Es ist also eine Uebertragung der Apparatdesinfektion ins Große. Wegen der hohen Kosten können derartige Anlagen nur an ganz wenigen Orten errichtet werden. Zu gleicher Zeit kann immer nur ein Wagen entseucht werden.

Von Stabsarzt Dr. Schneidt ist nun ein Verfahren angegeben worden, das, seine Wirksamkeit vorausgesetzt, eine große Reihe von Vorzügen besitzt. Schneidt verwendet als Desinfektionsmittel den Dampf der Lokomotive vermischt mit Formalindämpfen. Die Mischung findet in einem von Schneidt angegebenen Apparat statt. Bezüglich der Konstruktion des Apparates sei auf die Veröffentlichung Schneidts in der Hygienischen Rundschau (1916, No. 10) verwiesen. Das Dampfformalingemisch wird von außen in den Wagen eingeführt. An Thermometern wird festgestellt, wann eine Wärme von 60° erreicht ist. Dann bleibt der Wagen etwa 1—2 Stunden verschlossen stehen, während welcher Zeit der Apparat zur Desinfektion anderer Wagen benutzt werden kann. Nach Ablauf dieser sogenannten „Einwirkungsdauer“ wird Dampf, mit Ammoniak gemischt, zur Bindung der Formaldehyddämpfe eingeleitet. Die ganze Desinfektion ist in etwa 2—3 Stunden erledigt.

Nicht nur bakterielle Krankheitserreger, sondern auch die tierischen Krankheitsüberträger, die Läuse, sollen durch das Verfahren mit Sicherheit abgetötet werden.

Das Verfahren ist einfach, überall ausführbar, wo eine Lokomotive zur Verfügung steht, wenig zeitraubend, da mehrere Wagen durch zeitliches Ineinanderschieben der Beladung mit dem Desinfektionsgemisch und der Neutralisation gleichzeitig behandelt werden können. Eine Schädigung empfindlicher Objekte tritt nicht ein, da die Temperatur von 65° nicht überschritten wird. Es fragt sich also nur, ob das Verfahren auch so sicher und wirksam ist, wie angegeben.

v. Esmarch[1]) hat schon im Jahre 1902 im Anschlusse an Forschungen von Kokubo Versuche über die Wirkung von Formalin-Wasserdämpfen ausgeführt. Er konnte feststellen, daß im Dampfdesinfektionsapparat Milzbrandsporen bei einem Zusatz von 1 Proz. Formalin zum Kochwasser bei 65° C in 15 Minuten abgetötet wurden.

Bei Luftabsaugung genügten 60° bei 15—20 Minuten langer Einwirkung, um Milzbrandsporen abzutöten, bei 50° waren sie allerdings nach 30 Minuten noch entwickelungsfähig.

Bei Zusatz von 2 Proz. Formalin genügten bei 60° 10 Minuten, bei Zusatz von 4 Proz. Formalin nur 5 Minuten zur Abtötung der Milzbrandsporen.

Ein dem Schneidtschen Verfahren sehr ähnliches ist das sogenannte „japanische Verfahren“[2]). Auch hier wird Wasserdampf, der nach dem Prinzip der Inhalationsapparate Formalin mit sich reißt, in eine verschlossene Kammer eingeleitet, in welcher die zu desinfizierenden Gegenstände untergebracht sind. Die von den Autoren angegebenen Erfolge sind als äußerst günstige zu bezeichnen; hervorzuheben ist namentlich die Tiefenwirkung des Verfahrens. Es sei allerdings darauf hingewiesen, daß zur Prüfung des Verfahrens keine Sporenbildner, sondern nur vegetative Formen, wie Typhus- und Prodigiosus-Bazillen, verwendet wurden.

Wie wir von Herrn Schneidt persönlich erfahren haben, war ihm bei der Ausarbeitung seiner Methode dieses japanische Verfahren nicht bekannt, ebensowenig wie die Esmarchschen Studien.

Obwohl nach diesen Angaben in der Literatur an der Wirksamkeit des Prinzips nicht zu zweifeln war, erschien uns doch eine eingehendere Prüfung des Schneidtschen Verfahrens, namentlich auch in der Absicht, Richtlinien hinsichtlich der Temperaturverhältnisse und der nötigen Einwirkungsdauer zu finden, durchaus angezeigt.

Dank dem schätzungswerten Entgegenkommen der Kgl. Eisenbahndirektion und der Kgl. Linienkommandantur Nürnberg konnten wir auf dem Hauptbahnhof in Nürnberg 5 Versuche und in der Maschinenwerkstätte Nürnberg 2 Versuche ausführen.

Der Apparat wurde uns von der herstellenden Firma, der Deutschen Desinfektionszentrale in Berlin, gütigst überlassen.

Als Testproben nahmen wir folgendes Bakterienmaterial:

1) Milzbrandsporen
2) Gartenerdesporen } bei sämtlichen Versuchen.
3) Baumwollesporen (Bac. Gossypii)

---

[1]) v. Esmarch, Die Wirkung von Formalinwasserdämpfen im Desinfektionsapparat. Hyg. Rundschau. 1902. S. 961.

[2]) Uyama, Tsuzuki, Oshida u. Matsuda, Ueber eine Schnell- und Massendesinfektionsmethode mit Formalin und Wasserdampf. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. 1908. S. 465.

4) Tetanussporen bei Versuch VI.
5) Staphylococcus pyogenes aureus
6) Diphtheriebazillen } bei Versuch V und VI.
7) Ruhr-Flexner-Bazillen

1—6 waren in größerem Vorrat an Seidenfäden angetrocknet; 7 wurde jeweils erst am vorhergehenden Nachmittag angetrocknet.

Die Widerstandskraft gegenüber strömenden Wasserdampf, im Ohlmüller-Apparat geprüft, lag bei

den Milzbrandsporen zwischen $^3/_4$ und 1 Minute,
„ Gartenerdesporen „ 3 „ 4 Minuten,
„ Baumwollesporen „ 8 „ 10 „

Die nur in einem Versuch (VI) verwendeten Tetanussporen wurden nicht mehr eigens geprüft. Nach den vorhandenen früheren Angaben hatten Sporen des gleichen Stammes eine Widerstandskraft von 3 Minuten.

Als widerstandsfähigste Lebewesen mußten die Baumwollesporen gelten, als die am leichtesten abzutötenden die Flexner-Bazillen.

Die infizierten Fäden kamen in die üblichen Fließpapierpäckchen. Diese wurden teils ohne weitere Unterlage frei oder in Umhüllungen ausgelegt, teils kamen sie in eine Glasschale zu liegen.

Die nach Beendigung der Versuche entnommenen Proben wurden möglichst bald ins Laboratorium verbracht und dort, nach Abspülung in steriler 1-proz. Ammoniaklösung auf optimale Närböden verimpft: Bei den Sporen zu 1—3 und den Staphylokokken in Bouillon und auf Agarplatten, bei den Tetanussporen in hohe Bouillon- und Traubenzuckeragarschicht, die Diphtheriebazillen kamen in Bouillon und auf Löffler-Serum, die Ruhrbazillen in Bouillon und auf Drigalski-Agarplatten. Zu jedem Versuch wurden gleichartige nicht desinfizierte Fäden nach gleicher Vorbehandlung zur Kontrolle auf die gleichen Nährböden verbracht. Bei den 3 letzten Versuchen wurden die Kontrollfäden in mit Kork verschlossenen Glasröhrchen in die zu desinfizierenden Wagen miteingelegt, um wenigstens der gleichen Wärmeeinwirkung ausgesetzt zu sein.

Tabelle I.
Zu Versuch I vom 20. Oktober 1916.

Gruppe bzw. Probe	I		II		III		IV		V		VI		VII		VIII		IX		X		Kontrollen	
Lagerung	Fußboden, linke1) Ecke hinter Stirnwand unter 8 Schichten Wolldecke (+ 0)2)		wie I, aber unter 4 Schichten Wolldecke (+ 0)		frei am Boden neben Decke für Gruppe I und II (+ 0)		Fußboden, linke Ecke vor Rückwand unter 6 Schichten Wolldecke (+ 0)		wie IV, aber unter 2 Schichten Wolldecke (+ 0)		auf Randleiste hinter Stirnwand, 1 m über Dampfeintritt (+ 2,0)		auf Randleiste der rechten Seitenwand, neben der Türe (+ 2,0)		auf Randleiste der Rückwand, in der Mitte (+ 2,0)		frei in der Mitte des Fußbodens (+ 0)		dicht unter der Decke des Wagens in der Mitte (an Maximalthermometer I befestigt) (+ 2,1)			
	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A
Milzbrandsporen	+	+	+	+	0	0	+	+	0 (—)	0 (—)	0 (—)	0 (—)	0	0	0	0 (—)	0	0	0	0	+	+
Gartenerdesporen	+	+	+	+	0	0	+	+	0 (—)	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+
Baumwollesporen	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+

Zeichenerklärung: B = Bouillonröhrchen, A = Agarplatte, + = gewachsen, 0 = abgetötet, (—) = Wachstum von artfremden Sporenbildnern, . = keine Probe der betreffenden Art ausgelegt.

---

1) Links und rechts von der Richtung des Dampfeintrittes aus gerechnet.

2) Die eingeklammerten Zahlen geben die Höhe über dem Fußbodens des Wagens (in Metern) an.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Bei den am wenigsten widerstandsfähigen Bakterien (Ruhr-Flexner) konnte eine gewisse Wirkung der Wärme allein immerhin in Frage kommen.

Die Beobachtung der mit den Versuchsfäden beschickten und bei 37° bebrüteten Nährböden erstreckte sich auf 8 Tage. Eine Verzögerung des Wachstums trat nur in Ausnahmefällen ein. Hierüber und über das Auftreten von Verunreinigungen wird bei den einzelnen Versuchen noch das Nötige gesagt werden.

Bei der Verteilung der Proben im Wagen bestrebten wir uns, namentlich die schwerer zugänglichen Stellen und Winkel sowie auch verschiedenen Höhenlagen und Entfernungen vom Dampfformalineintritt aus zu wählen. Auch durch verschieden dichte Umhüllung einzelner Proben sollte ein Urteil über die Tiefenwirkung der Desinfektion gewonnen werden.

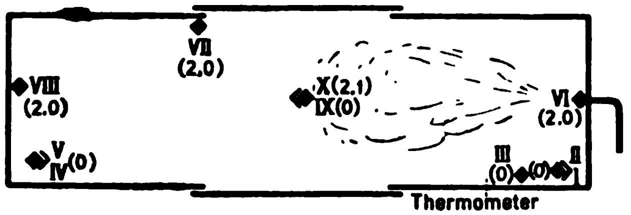


Fig. 1.

Nach den Angaben von Dr. Schneidt ist eine besondere Abdichtung der Wagen nicht nötig. Immerhin wurden aber bei unseren Versuchen, bei deren beiden ersten Dr. Schneidt gegenwärtig war, die Türen auf Stirn- und Rückseite des Wagens mit Watte abgedichtet. Auch die Lüftungsvorrichtungen müssen auf „Zu“ gestellt sein; wenn wir bemerkten, daß aus ihnen deutlich Dampf entwich, wurden sie auch noch vom Wagendach aus mit Watte verstopft. Daß die Fensterscheiben keine größeren Sprünge oder gar Löcher haben dürfen, braucht wohl ebensowenig erwähnt zu werden, wie daß die Fenster geschlossen sein müssen. Eine weitere Abdichtung der Fenster wurde aber nicht vorgenommen.

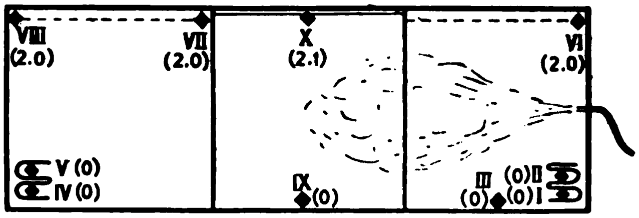


Fig. 2.

Auf die Frage der Heizung der Wagen sei erst später eingegangen. Daß eine Vorwärmung nötig ist, ist durch das beim Schneidtschen Verfahren angewandte Prinzip der „Dampfdesinfektion“ gegeben. Hinsichtlich der Temperatur und der Einwirkungsdauer befolgten wir zunächst die Angaben Dr. Schneidts, der, wie oben erwähnt, bei den beiden ersten Versuchen anwesend war. Bei unseren weiteren Versuchen änderten wir dann Erwärmung und Einwirkungsdauer, allerdings ohne uns allzusehr von den Schneidtschen Werten zu entfernen.

Nunmehr mögen die Berichte über die einzelnen Versuche folgen:

Versuch I am 20. Okt. 1916 nachmittags im Hauptbahnhof Nürnberg auf Gleis I bei einer Außentemperatur von + 3,0° (Tabelle I s. S. 400).

Auf Wunsch Dr. Schneidts wurde die Desinfektion eines Viehtransportwagens vorgenommen. Die Art und Verteilung der ausgelegten Proben ist aus Tabelle I und den Figuren 1 und 2 zu ersehen. Bei den Proben I bis V handelt es sich um Gruppen von je 3 verschiedenen Sporenfädenpäckchen, bei VI—IX wurden Milzbrandsporen allein ausgelegt.

Die Lagerung der Gruppen I, II, IV, V zwischen verschiedenen Wolldeckeschichten wurde dadurch bewirkt, daß eine doppelt gelegte Decke „harmonikaartig“ gefaltet wurde. In Fig. 2 ist die doppelte Decke durch einfache Striche bezeichnet.

Tabelle Ia.

Zeit	Temperatur im Wagen	Atm.-Druck im Apparat	Bemerkungen
3^{50}	—	—	Beginn der Dampfeinleitung
3^{52}	—	0,5	
3^{53}	—	0,5	Ablassen des Kondenswassers
3^{55}	—	0,25	Abstellen des Dampfes, Zugabe von 750 ccm Formalin (35-proz.), Dampf wieder zugelassen
3^{57}	20°	1,0	
4^{00}	—	1,25	
4^{01}	—	1,50	Dampf wird gedrosselt
4^{04}	30°	„	
4^{05}	35°	„	
4^{08}	37°	1,75	
4^{09}	„	„	Wasserstandsrohr bricht! (Das Formalin scheint verdampft)
4^{10}	36°	1,50	
4^{11}	37°	„	
4^{15}	38°	„	
4^{17}	42°	„	
4^{20}	44°	2,0	
4^{25}	47°	„	
4^{30}	50°	„	
4^{35}	52°	„	
4^{40}	54°	„	
4^{45}	55°	„	
4^{50}	56°	„	
4^{55}	„	„	
4^{57}	57°	1,8	Mehr Dampf zugeführt
5^{01}	59°	2,25	
5^{05}	59,5°	„	Abstellen des Dampfes
5^{30}	50°	—	
6^{00}	40°	—	
6^{20}	25°	—	Wagen bleibt $1^1/_2$ Stunde verschlossen bis 6^{35}
6^{35}	—	—	Wagen wird geöffnet

Dicht neben Probe X, in der Mitte der Decke, hängt Maximalthermometer I, Maximalthermometer II kommt neben Gruppe IV zu liegen.

Die Abdichtung erwies sich bei den doppelseitigen, großen und nur mangelhaft schließenden Türen als schwer durchführbar.

Als Dampfquelle diente eine Lokomotive. Der Apparat wurde zwischen Maschine und Stirnwand des Viehwagens auf ein über den Puffern angebrachtes Brett aufgestellt. Der Formalinwasserdampf wurde in der Mitte der Stirnwand in einer Höhe von 1 m über dem Boden des Wagens nach Entfernung einer Schraube und hierdurch geschaffener Oeffnung eingelassen.

Der Wagen hatte einen Rauminhalt von 43,6 cbm (Bodenfläche 21,8, Höhe 2,10 m).

Die Formalingabe betrug auf Vorschlag Dr. Schneidts 750 ccm, also auf 1 cbm 17,2 ccm des käuflichen 35-proz. Formalins.

Die Hauptversuchsbedingungen für diesen 1. Versuch lauteten: Erreichung einer Temperatur von 60°, abgelesen an einem durch eine Oeffnung an der linken Seitenwand des Wagens durchgesteckten Thermometer, $1^1/_2$-stündige Einwirkungsdauer des Formalinwasserdampfes.

Ueber den Verlauf des Versuches gibt Tabelle Ia Aufschluß. Da die Gummiverbindungsschläuche zwischen Dampfquelle und Apparat und diesem und der Ausströmungsdüse „Kriegsware“ waren, suchten wir nach Möglichkeit Dampfspannungen über 1,5 Atm. zu vermeiden.

Trotz der Abdichtung strömte zu beiden Seiten des Wagens an den Türspalten ziemlich viel Dampf aus. Das Wasserstandsrohr am Apparat brach um 4 Uhr 9 Minuten, 14 Minuten nach dem Formalinzusatz. Das Formaldehyd dürfte jedoch schon vollständig mit dem Dampf in den Wagen eingedrückt gewesen sein. Die Temperatur von 59,5° wurde um 5 Uhr 5 Minuten, also 75 Minuten nach Beginn der Dampfeinleitung erreicht. Nach dem Abstellen des Dampfes um 5 Uhr 5 Minuten sank die Temperatur innerhalb 25 Minuten von 60 auf 25°.

Eine Vorwärmung konnte nicht ausgeführt werden. Auch eine Ammoniakneutralisation, wie solche zur Desinfektion von Lazarettzugwagen bei dem Schneidtschen Apparat vorgeschrieben ist, unterblieb bei diesem 1. Versuche aus äußeren Gründen. Beim Oeffnen des Wagens nach im ganzen 2 Stunden 45 Minuten war daher nach beendeter Desinfektion der Geruch nach Formalin ein überaus starker. Die im Wagen befindlichen Maximalthermometer I und II zeigten 62 bzw. 54,5° an.

Bei der niederen Außentemperatur war vorauszusehen, daß sich in den kalten unvorgewärmten Wagen reichlich Kondenswasser bilden würde. Es war das auch in solchem Grade der Fall, daß auf dem Boden „alles schwamm". Die Decken waren zum Auswinden naß, die Fließpapiersäckchen meist ganz durchfeuchtet.

Die Proben wurden sobald wie möglich im Laboratorium verarbeitet.

Das Ergebnis der Prüfung war (vgl. Tabelle I): Alle die Milzbrandsporen, die frei ausgelegt waren (III, VI, VII, VIII, IX, X), erwiesen sich als abgetötet. Von den zwischen Decken eingelegten Proben zeigte nur die zur Gruppe V gehörige Abtötung. In dem Kondenswasser, das sämtliche Schichten der beiden Wolldecken und die dazwischen liegenden Proben gleichmäßig durchtränkt hatte, war nicht genügend Formaldehyd gelöst, um alle Proben abzutöten. Wenn also nur die zu oberst gelegene Probe abgetötet wurde, so möchten wir hauptsächlich an die Wirkung der Wärme denken. Wie wir später bei Versuch VII sehen werden, genügte nämlich auch ohne Formalin die zweistündige Einwirkung des Wasserdampfes allein, um eine der Milzbrandprobe (Probe I) abzutöten. Das bei Versuch VII neben dieser Milzbrandprobe gelegene Maximalthermometer zeigte 56°, das bei Probe IV des Versuches I, also um 4 Schichten Wolldecken tiefer als Gruppe V gelegene, 54,5°, ein Unterschied, der nicht allzuschwer ins Gewicht fallen dürfte, um so mehr als anzunehmen ist, daß bei Gruppe V eine um etwas höhere Temperatur als bei der dem kalten Fußboden näher gelegenen Gruppe IV vorhanden gewesen sei.

Nicht abgetötet wurden die Milzbrandsporen zu Gruppen I, II und IV. Gruppe II lag nur unter 4 Wolldeckenschichten, die übrigen unter mehr Schichten. Daß diese im ganzen doch ziemlich locker gelagerten Deckenschichten an sich ein Vordringen der Formaldehyddämpfe verhindert haben, ist wenig wahrscheinlich. Wir möchten die Vermutung aussprechen, es sei durch die reichliche Kondenswasserbildung sowohl dem Vordringen des Wasserdampfes und damit der Wärme selbst, wie namentlich den Formaldehyddämpfen Einhalt getan worden.

Die Gartenerdesporen verhielten sich ganz entsprechend den Milzbrandsporen; die noch resistenteren Baumwollesporen wurden nicht einmal in der freiliegenden Gruppe III abgetötet, ebenso nicht in Gruppe V.

Die Durchnässung der Probepäckchen hatte noch eine andere Folge: Durch die Flüssigkeit wurden aus dem Staube auf der Randleiste und dem Stroh und Mist auf dem Fußboden artfremde, noch resistentere Sporen beigemengt. Auf Tabelle I ist dies in dem betreffenden Falle durch das Zeichen (—) unter dem Zeichen 0 vermerkt. Die verunreinigenden Kolonien ließen sich meist schon direkt, in anderen Fällen bei weiterer Untersuchung als solche erkennen. Wo das +-Zeichen angegeben ist, war trotz der Verunreinigungen, die auch hier nicht fehlten, die in Betracht kommende Art mit Sicherheit nachzuweisen.

Hinsichtlich des Desinfektionserfolges hatte also Versuch I ein im ganzen ziemlich befriedigendes Ergebnis geliefert, insofern als sämtliche freigelegenen und die durch zwei Wolldecken bedeckte Probe abgetötet waren, während nur die unter 4 und mehr Decken gelegenen Milzbrandsporen widerstanden hatten. Die Störungen durch die reichliche Kondenswasserbildung, die Durchnässung der Decken, der aufgeweichte Schmutz zeigten aber, daß bei kalter Außentemperatur die Desinfektion ohne Vorwärmung von nicht vermeidbaren Uebelständen begleitet ist. Bei Viehwagen mag ja die Sache noch hingehen; sie können nach der Desinfektion leicht gereinigt werden. Bei Lazarettzugwagen ist diese Durchnässung nicht zulässig. Es fragt sich auch, ob bei der Viehwagendesinfektion bei starker Belegung des Bodens mit Stroh, Erde und Mist die Dämpfe genügend durchdringen.

Eine Abhilfe gegen diesen Uebelstand könnte auf 2 Wegen getroffen werden. Entweder durch vorheriges Einstellen von Kohlenbecken in den Wagen, oder dadurch, daß man die Wagen in einen größeren gewärmten Raum einführt und erst, wenn sie hier die wärmere Außentemperatur angenommen haben, der Desinfektion unterwirft. Dies Verfahren wäre immer noch weit einfacher und billiger, als das eingangs erwähnte mit der großen Vakuumkammer. Zur warmen und heißen Jahreszeit fällt die unangenehme Begleiterscheinung der allzu reichlichen Kondenswasserbildung selbstverständlich weg. Jeden leeren Wagen oder jeden hölzernen Raum aber als improvisierte Desinfektionskammer im Felde zu benützen, wie Dr. Schneidt in seiner Veröffentlichung S. 319 ausführt, dürfte also bei kühler und namentlich bei kalter Außentemperatur nicht angehen.

Für die Versuche II bis VII stand jedesmal ein gleichartiger Personenwagen III. Klasse, der Serie „Ci.“ angehörend, zur Verfügung mit einem Kubikinhalt von 80 cbm.

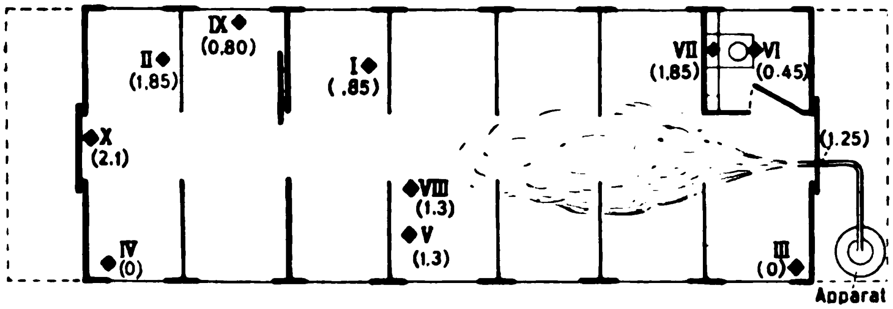


Fig. 3.

Um Vergleiche zwischen den einzelnen Versuchen zu ermöglichen, wurden die Probepäckchen stets an den gleichen Stellen, — wenn auch nicht in allen Versuchen an sämtlichen Stellen — ausgelegt.

Auf Fig. 3 (Personenwagengrundriß) sind diese Stellen eingezeichnet.

Die Verteilung war folgende (Gruppe bzw. Probe):

I. Neben 5. Fenster rechts auf Gepäckträger der Vorderseite, unter 2 Wolldeckenschichten (+ 1,85 m Höhe).
II. Neben 7. Fenster rechts auf Gepäckträger der Vorderseite, unter 2 Wolldeckenschichten (+ 1,85 m).
III. Neben 1. Fenster links, unter Bank der Vorderseite, linke Ecke, frei auf Glasschale am Fußboden (+ 0 m).
IV. Neben 7. Fenster links, unter Bank der Hinterseite, linke Ecke, frei auf Glasschale am Fußboden (+ 0 m).
V. Zwischen 4. und 5. Fenster links in einem locker geöffneten, an mittlerer Tragsäule hängenden Tornister (+ 1,30 m).
VI. Offen in Glasschale auf Abortdeckel (+ 0,45 m).
VII. Offen auf Waschschrank im Abort (+ 1,85 m).
VIII. Zwischen 4. und 5. Fenster linke Seite in Tasche einer Uniformhose (+ 1,30 m).
IX. Am 6. Fenster rechts in dem Zigarrenaschebehälter (+ 0,80 m).
X. An Rückwand des Wagens über der Tür auf Randleiste (+ 2,10 m).

Unmittelbar neben Probe II kam Maximalthermometer I zu liegen. Maximalthermometer II wurde in einen Mannschaftsstiefel eingelegt, der neben 5. Fenster links auf der Bank der Vorderseite stand.

Die Ablesung der Temperaturzunahme erfolgte auf einem Thermometer, das hinter der Scheibe des 5. Fensters links mit Schnüren, Pflaster u. dgl. angebracht war. Hier

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

hatten wir bei einigen Versuchen, namentlich bei Versuch V Schwierigkeiten, einmal durch Beschlagen der Fenster, dann aber auch durch das Drehen der Holzunterlage, auf der bei einigen Versuchen das Thermometer angebunden war. Erst bei Versuch VI wurde eine befriedigende Befestigung des Thermometers gefunden: Eine ziemlich breite, biegsame linealförmige Holzleiste wurde mit den Flächen nach oben und unten quer zwischen die Seitenwände des Fensterrahmens verspreizt. Das oben und unten mit passend zugeschnittenen Korken versehene Thermometer wurde zwischen Holzleiste und Fensterscheibe in der durch die nebenstehende Skizze (Fig. 4) dargestellten Weise festgehalten. Wir gingen auf diese Befestigungsart so ausführlich ein, weil wir sie ihrer Einfachheit halber auch für die Praxis empfehlen möchten. Das Thermometer steht hierbei ein wenig von der Fensterscheibe ab und wird durch die Kälte nicht so sehr beeinflußt. Am wünschenswertesten wären allerdings elektrische Thermographen, doch standen uns solche leider nicht zur Verfügung.

Der Apparat wurde auf der vorderen Plattform des Wagens dicht über dem Antritt aufgestellt. Beim Versuch II wurde der Dampf nochmals aus einer Lokomotive, bei den übrigen Versuchen aus einer unterirdischen Dampfleitung, die sonst zur Heizung der Wagen dient, geliefert. Die Wagen wurden jedesmal vorgewärmt, dann die Dampfleitung mit dem Apparat verbunden. Die Einleitung in den Wagen erfolgte durch das ausgehobene Schloß der Tür an der Stirnwand des Wagens hindurch in einer Höhe von 1,25 m über dem Fußboden des Wagens. Die Wagen hatten einen Rauminhalt von 80 cbm.

Die Formalingabe betrug mit Ausnahme von Versuch VI, wo 800 cm und Versuch VII, wo überhaupt kein Formalin eingeleitet wurde, stets 1250 ccm; es treffen also auf 1 cbm Raum 15,6 ccm Formalin. Stirn- und Rückwand wurde mit Watte abgedichtet, die Ventilationsöffnungen kurz nach Beginn der Dampfeinleitung zugestopft.

Die Art des bei den Versuchen II bis VII verwendeten Probemateriales und das Ergebnis der Prüfung auf Abtötung ist aus Tabelle II für die 6 Versuche zu ersehen.

Im einzelnen ist zu den Versuchen noch folgendes zu bemerken:

Versuch II vom 27. Okt. 1916 bei + 10,0° Außentemperatur.

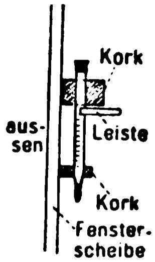


Fig. 4.

Der Wagen wurde auf 20° vorgewärmt, Dampf-Formalineinleitung, bis 60° am Fenster abgelesen wurden, was nach 60 Minuten der Fall war. Der Wagen blieb dann 2 Stunden verschlossen stehen; während dieser ganzen Zeit wurde der Dampf in die Heizkörper des Wagens geleitet. Die Neutralisation wurde durch 250 ccm Ammoniak (also auf 1 cbm Wageninhalt 3,1 ccm Ammoniak) herbeigeführt und der Versuch um 3 Uhr beendet. Beim Oeffnen ist der Formalingeruch ziemlich erheblich. Aus äußeren Gründen war die von uns zur Neutralisation eingeleitete Ammoniakmenge eine unzureichende, meist 3,12 ccm auf 1 cbm Wageninhalt, während man sonst etwa 15 ccm nimmt. Für die desinfektorische Wirkung ist dies jedoch ohne Belang, zumal wir, wie erwähnt, sämtliche Proben vor der Verimpfung nochmals mit Ammoniakwasser spülten.

An den Innenwänden des Wagens zeigt sich ein weißer Belag von Paraform. Dieser wird jedoch durch sofortiges Abreiben mit Papier und Stoffabfällen fast vollkommen entfernt. Die Feuchtigkeit war eine geringfügige; die wenigen feuchten Stellen am Fußboden trockneten infolge der weiter wirkenden Heizung bald fast völlig auf. Maximalthermometer I zeigte 53,5°, Maximalthermometer II 55,2°. Die Wolldecken, die Uniformhose, der Tornister, in welche die Probepäckchen eingelegt waren, und die Stiefel wiesen keinerlei Schädigung durch die Desinfektion auf.

Das Ergebnis des Versuches war:

Von den ausgelegten Milzbrand-, Gartenerde- und Baumwollesporenfäden erwiesen sich nur einzelne als noch lebensfähig. Von Milzbrand die Fäden der Gruppe II, beim 7. Fenster auf der rechten Seite oben auf dem Gepäckträger, die unter 2 Decken lagen, und die Fäden der Gruppe IV, die beim 7. Fenster links frei auf einer Schale unter der Bank gelegen hatten. Von den Gartenerdesporen wuchs nur eine Probe, ebenfalls die der Gruppe II, und zwar nur auf Agar. Von den Baumwollesporen zeigten die beiden Proben der Gruppe II und V und der in Bouillon gebrachte Faden

Ta
Zu den Ver

Versuch	Gruppe bzw. Probe	I		II		III		IV	
	Lagerung	Neben 5. Fenster rechts 1), auf Gepäckträger der Vorderseite unter 2 Wolldeckenschichten (+ 1,85) 2)		Neben 7. Fenster rechts, auf Gepäckträger der Vorderseite unter 2 Wolldeckenschichten (+ 1,85)		Neben 1. Fenster links, unter Bank der Vorderseite in der linken Ecke frei auf Schale am Fußboden (+ 0)		Neben 7. Fenster links, unter Bank der Hinterseite, in der linken Ecke, frei auf Schale am Fußboden (+ 0)	
		B	A	B	A	B	A	B	A
II 15,6 F. 60° 2 Std. (0 + 120)	Milzbrand	0 (—)	0 (—)	+	+	0	0	+	+
	Gartenerde	0	0	0	+	0	0	0	0
	Baumwolle	0	0	+	+	0	0	+	0
III 15,6 F. 60° 2 Stdn. (90 + 30)	Milzbrand	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gartenerde	0	0	0	0	0	0	+	0
	Baumwolle	0	0	0	0	0	0	0	0
IV 15,6 F. 60° 1 Stde. (50 + 10)	Milzbrand	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gartenerde	0	0	0	0	0	+	0	+
	Baumwolle	0	0	0	0	+	+	0	0
V 15,6 F. 55° $1^1/_2$ Stde. (80 + 10)	Milzbrand	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gartenerde	0	0	0	0	0	0	0	0
	Baumwolle	+ 3. Tag	+ 3. Tag	0	0	+	0	0	+
	Staphyl. aur.	0	0	0	0	0	0	.	.
	Diphtherie	0	0 3)	0	0	0	0	.	.
	Ruhr Flexner	0	0 4)	0	0	0	0	.	.
VI 10,0 F. 55° $1^1/_2$ Stde. (60 + 30)	Milzbrand	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gartenerde	0	0	0	0	0	0	0	0
	Baumwolle	+	0	+	+	+	+	+	+
	Staphyl. aur.	0	0	0	0	0	0	.	.
	Diphtherie	0	0	0	0	0	0	.	.
	Ruhr Flexner	0	0 4)	0	0	0	0	.	.
	Tetanus	.	.	0 5)	0 5)	.	.	.	.
Nebenversuch VII 0 F. 55° $1^1/_2$ Stdn. (60 + 30)	Milzbrand	0	0	.	.	+	+	+	+
	Baumwolle	+	+	.	.	+	+	+	+
	Ruhr Flexner	0	0	.	.	+	+	+	+

Zeichenerklärung: Vgl. Tabelle I, außerdem: zu Spalte I: F. = Zahl der Wärmegrade, bis zu deren Ablesung am „Fensterthermometer" das Dampfformalinweitere Einleitung, darunter (in Klammern) die Zahl der Minuten, während welcher zuschaltet war.

---

1) u. 2) Vgl. Anm. zu Tabelle I.

4) Auf Drigalski-Agarplatte.

belle II.
suchen II—VII.

V		VI		VII		VIII		IX		X		Kontrollen	
Zwischen 4. u. 5. Fenster links, im Tornister, der unter der Mitte des Gepäckträgers hängt (+ 1,30)		Frei in Glasschale auf Abortdeckel (+ 0,45)		Frei auf Waschschrank im Abort (+ 1,85)		Zwischen 4. u. 5. Fenster links, in der Tasche einer Uniformhose, die an der Tragsäule des Mittelganges hängt (+ 1,30)		Unterhalb 6. Fenster rechts in dem Aschenbehälter (+ 0,80)		Ueber Türe der Rückwand auf Randleiste (+ 2,10)			
B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
0	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+
+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
0	0	0	0	0	0	0	0	(—) 0	0	0	0	+	+
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	+	+
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
0	+	0	0	0	0	0	0	+ 3. Tag	+	0	0	+	+
.	.	.	.	0	0	.	.	.	.	0	0	+	+
.	.	.	.	0	0	.	.	.	.	0	0	+	+ 3)
.	.	.	.	0	0	.	.	.	.	0	0	+	+ 4)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
0	0	+	+	0	0	0	0	+	+	0	0	+	+
.	.	.	.	0	0	.	.	.	.	0	0	+	+
.	.	.	.	0	0	.	.	.	.	0	0	+	+ 3)
.	.	.	.	0	0	.	.	.	.	0	0	+	+ 4)
.	.	.	.	.	.	0	0	.	.	.	.	+ 5)	+ 5)
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+	+	+
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+	+	+
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+ 2. Tag	0	+	+

Kubikzentimeter Formalin (85-proz.), die auf 1 cbm Raum trafen, darunter folgen die gemisch eingeleitet wurde, dann die Dauer des Verschlusses des Wagens ohne nächst die Heizung ausgeschaltet, + die Minuten, während welcher sie wieder einge-

---

3) **Auf Loeffler-Serumplatte.**

5) **Anaërobe Kultur in hoher Bouillon- bzw. Agarschicht.**

der Gruppe IV Wachstum. Die anderen Proben waren abgetötet. Die Kontrollproben zeigten nach 12 Stunden gutes Wachstum.

Im ganzen verlief also dieser Versuch etwa entsprechend dem Versuch I. Von den mit 2 Wolldeckeschichten bedeckten Gruppen I und II war bei der vom Dampfeintritt entfernter liegenden keine Abtötung eingetreten. Aber auch eine freiliegende Milzbrandprobe, Gruppe IV, wurde nicht abgetötet. Dies Versagen der Desinfektion gegenüber einem frei ausgelegten Probepäckchen mit Milzbrandfäden führten wir nach früheren Erfahrungen des einen von uns darauf zurück, daß die betreffende Gruppe IV direkt neben dem unter der Bank befindlichen, eine große Hitze ausströmenden Heizkörper lag. An dieser Stelle war die relative Feuchtigkeit für die Einwirkung des Formaldehyds zu gering. Daneben könnte allerdings auch in Betracht kommen, daß Gruppe IV von allen Gruppen die vom Dampfeintritt entferntest gelegene war.

Von Versuch I unterscheidet sich Versuch II auf das vorteilhafteste dadurch, daß bei ihm die Störungen infolge der Kondenswasserausscheidungen so gut wie ganz wegfielen.

Versuch III vom 10. Nov. 1916 bei einer Außentemperatur von + 9,5°

nahmen wir nochmals unter den gleichen Bedingungen hinsichtlich Formalin- und Ammoniakgabe, Erwärmung und Verschluß des Wagens wie bei Versuch II vor, nur wurde die Heizung während der ersten 90 Minuten des Verschlusses des Wagens ausgeschaltet und erst wieder während der letzten 30 Minuten in Gang gesetzt. Außerdem wurden an allen Stellen die drei verschiedenen Sporenarten ausgelegt. Das Vorwärmen des Wagens ging außerordentlich langsam vor sich, da sich das Heizkörpersystem neben den linken Fenstern 4 und 5 als gestört erwies und die Störung nicht beseitigt werden konnte. Erst nach 20 Minuten Vorwärmung konnte mit der Dampfeinleitung begonnen werden. Die Temperatur von 60° wurde erst nach 95 Minuten erreicht. Während des Verschlusses des Wagens ging die Temperatur nach Ausschaltung der Heizung auf 34° herunter, stieg aber nach der Wiedereinschaltung der Heizung und der Einleitung des Dampfammoniakgemisches nochmals auf 38° an.

Die Probepäckchen sind bei der Entnahme trocken mit Ausnahme von Gruppe VII, die auf dem Waschschränkchen im Abort gelegen hatte; der Geruch nach Formalin ist schwach, die Feuchtigkeit fast ganz geschwunden, und die Beläge, die von der Desinfektion zurückgeblieben sind, schienen geringer als bei Versuch II.

Das Ergebnis war ein sehr gutes. Sämtliche Proben mit Ausnahme eines Gartenerdefadens, welcher bei Gruppe IV gelegen hatte, waren abgetötet.

Der so günstige Ausfall von Versuch III konnte sowohl mit der Länge der Einwirkungsdauer zusammenhängen als mit dem teilweisen Ausschalten der Heizung. Zur sogenannten Einwirkungsdauer, d. i. der Zeit, die der Wagen nach Erreichung der gewünschten Temperatur geschlossen stehen bleibt, muß der größte Teil der Zeit hinzugerechnet werden, die bis zur Erreichung jener Temperatur nötig ist, da wir den Formalinzusatz zum Dampf stets sehr bald nach Beginn der Dampfeinleitung machten. Ein Grund, warum man zunächst mit Dampf allein anwärmen und dann erst das Formalin zugeben soll, ist uns nicht ersichtlich. Im Gegenteil hat die frühzeitige Beimischung des Formaldehyds den Vorteil einer Zeitersparnis infolge besserer Ausnützung.

Beim nächstfolgenden Versuch suchten wir die Gesamtzeitdauer, die bei Versuch III 3 Stunden 45 Minuten betragen hatte, abzukürzen.

Die „Höchsttemperatur“ von 60° und die Formalinmenge behielten wir bei.

Versuch IV vom 17. Nov. 1916 bei einer Außentemperatur von 3,2°.

Dieser Versuch unterscheidet sich von Versuch II und III dadurch, daß die Formalinwasserdampfwirkung vom Verschluß des Wagens ab nur 1 Stunde währt und die Heizung erst 15 Minuten vor der Ammoniakgabe wieder eingeschaltet wird. Die einstündige Einwirkung verläuft also fast ganz ohne Heizung. Die Temperatur am Fensterthermometer geht von 60° innerhalb 50 Minuten auf 28° herunter, erhöht sich aber nach Einstellen der Heizung und infolge nochmaliger Dampfzufuhr bei der Neutralisation auf 48°. Die Angaben der Maximalthermometer waren: Maximalthermometer I 61° C, Maximalthermometer II 58,5°.

Der Versuch nimmt im ganzen 2 Stunden 27 Minuten in Anspruch. Der Geruch nach Formalin ist wiederum beim Oeffnen ziemlich deutlich, das Wageninnere aber rasch getrocknet.

Das Ergebnis ist ebenfalls sehr befriedigend, sämtliche Milzbrandsporen sind abgetötet, von den Gartenerdesporenfäden zeigen nur die zu Gruppe III und IV gehörigen auf Agar Wachstum, von den Baumwollesporenfäden nur die beiden zu Gruppe III und IX gehörigen.

Im folgenden Versuch V vom 24. Nov. 1916 bei einer Außentemperatur von + 4° C

leiteten wir das Desinfektionsgemisch nur so lange ein, bis am Fensterthermometer 55° erreicht waren. Dafür ließen wir den Wagen dann noch 1½ Stunde lang unter Verschluß stehen. Von diesen 90 Minuten blieben 80 Minuten ohne Heizung; während der letzten 10 Minuten wurde wieder geheizt. Die Formalinabgabe betrug wieder 15,6 ccm auf 1 cbm Raum. Außer den Milzbrand-, Gartenerde- und Baumwollesporen wurden an einzelnen Stellen auch noch Fäden, die mit Staphylokokken sowie mit Diphtherie- und Flexnerbazillen infiziert waren, ausgelegt. Die Kontrollproben wurden diesmal, wie auch in den folgenden Versuchen, jede für sich in einem mit Korkstopfen versehenen Gläschen verpackt, während des ganzen Versuches auf einer Bank bei Fenster 4 rechts ausgelegt. Der Wagen war beim Einströmen des Formalinwasserdampfes auf 21° vorgewärmt.

Bei diesem Versuch zeigten sich die oben erwähnten Schwierigkeiten beim Ablesen des Fensterthermometers. Wir sahen uns, als die Temperatur von 49° erreicht war, gezwungen, uns an die beim Versuch IV beobachteten Zeiten zu halten. Bei Versuch IV waren 55° C nach 45 Minuten, vom Augenblick der Dampfeinleitung an gerechnet, erreicht worden. Der entsprechende Zeitpunkt bei Versuch V war um 12 Uhr 25 Minuten. Von 12 Uhr 28 Minuten ab wurde der Wagen 1½ Stunde geschlossen gehalten. Die Gesamtdauer des Versuches betrug 2 Stunden 36 Minuten.

Das Ergebnis kann wieder als ein sehr gutes bezeichnet werden. Sämtliche Milzbrand- und Gartenerdesporen, die Staphylokokken, die Diphtherie- und Flexnerbazillen waren abgetötet. Von den sehr widerstandsfähigen Baumwollesporen zeigte nur ein Faden der Probe zur Gruppe IV am nächsten Tage Wachstum. Aus den beiden zu Gruppe I und IX gehörigen Baumwollesporenfäden wuchsen erst am dritten Tage Kolonien aus. Die nur der Wärmeeinwirkung im Wagen ausgesetzt gewesenen Kontrollproben gingen sämtlich reichlich an.

Die Herabsetzung der Höchsttemperatur hatte also keine Verschlechterung der Ergebnisse mit sich gebracht. Eine noch weitere Herabsetzung als auf 55° erschien wegen der Vernichtung der Läuse, auf welche Frage wir noch eingehen werden, als nicht angezeigt.

Bei dem nächsten Versuch VI vom 1. Dez. 1916 bei einer Außentemperatur von + 1° C

wollten wir hauptsächlich feststellen, ob gleich gute Ergebnisse auch mit einer geringeren Formalingabe erzielt werden könnten. Wir nahmen daher auf 1 cbm Raum nur 10 ccm Formalin (zur Neutralisation 7,5 ccm Ammoniak). Im übrigen waren die Versuchsbedingungen die gleichen wie bei Versuch V: 55° C als

„Höchsttemperatur“, abgelesen am Fenster, 1$^1/_2$-stündiger Verschluß des Wagens, davon 60 Minuten ohne, 30 mit Heizung.

Als neue Probefäden wurden diesesmal an zwei Stellen auch noch Tetanusfäden ausgelegt. Die Kontrollproben wurden in gleicher Weise wie bei Versuch V in verschlossenen Glasröhren untergebracht.

Der verwendete Personenwagen war identisch mit dem Wagen vom Versuch II.

Die Betriebsstörung der beiden Heizkörper neben Fenster 4 und 5 links war seit dem Versuch III noch nicht ausgebessert worden. Wir leiteten das Formalin bereits bei einer Temperatur von 16° ein. 55° waren nach 65 Minuten erreicht. Die Temperatur sank nach dem Abstellen des Dampfes nach 60 Minuten auf 32°, erhöhte sich aber nach nochmaligem Dampfeinleiten auf 51° nach 105 Minuten. Der ganze Versuch hatte 180 Minuten in Anspruch genommen, Maximalthermometer I zeigte nur 48°, das Maximalthermometer II 51,2° an.

Die Ergebnisse sind auch bei diesem Versuch sehr gute; mit Ausnahme der Baumwollesporen sind sämtliche ausgelegten Probefäden abgetötet. Bei den Baumwollesporen ist gegenüber den Ergebnissen bei Versuch V bei den Gruppen II, III, VI und IX eine Herabsetzung der Wirkung eingetreten. Für die Bewertung des Verfahrens genügt aber bekanntlich das Verhalten der Milzbrandsporen, und schon die Gartenerdesporen bedingen ein gewisses Plus der Anforderungen.

Mit diesen 6 Versuchen, von denen die letzten 4 ein übereinstimmend günstiges Ergebnis geliefert hatten, konnten wir das uns gestellte Ziel als erreicht betrachten. Es hätte sich nur mehr darum handeln können, mit den hauptsächlich wirksamen Faktoren 1) Formalingabe, 2) Höchsttemperatur, 3) Verschlußzeit noch weiter herunterzugehen. Für eine weitere Herabsetzung der Formalingabe ist weder durch Preis noch durch Beschaffung des Formalins eine Notwendigkeit gegeben. Die Menge von 10 ccm Formalin auf 1 cbm Raum stellt auch das Maß dar, das bei der Zimmerdesinfektion bei entsprechender Einwirkungszeit gebräuchlich ist.

Für die Höchsttemperatur ist durch die erwünschte Abtötung des Ungeziefers, der Läuse und Nisse, eine Mindestgrenze von 50—55° gezogen, worauf Schneidt in seiner Veröffentlichung besonders eingeht.

Eine Kürzung der „Verschlußzeit“ kam auch nicht in Frage, weil sich dann das Ineinanderschieben der Beladung mehrerer Wagen, was für Lazarettzüge sehr wesentlich sein kann, nicht mehr ausführen läßt.

Aus mehr theoretischem Interesse schlossen wir noch einen letzten Versuch VII vom 4. Dez. 1916 am Rangierbahnhof Nürnberg bei einer Außentemperatur von + 3,6° C an.

Durch diesen Versuch sollte festgestellt werden, wie weit die günstigen Ergebnisse der vorhergehenden Versuche auf die Dampfwirkung, d. i. die Wirkung der feuchten Wärme allein, zurückzuführen seien. Der Versuch wurde also nur mit Dampf, der durch den Schneidt-Apparat geleitet wurde, durchgeführt, ohne Formalin und Ammoniak.

Die Versuchsbedingungen sind im übrigen die gleichen wie bei den vorhergehenden Versuchen V und VI. Der Wagen ließ sich gut auf 20° vorwärmen, die Temperatur von 55°, am Fenster abgelesen, wurde nach 62 Minuten erreicht. Der Wagen blieb 1$^1/_2$ Stunde geschlossen, die Heizung wurde nur während der letzten 30 Minuten in Gang gesetzt. Die Temperatur ging während des Verschlusses auf 31° zurück, stieg aber, sobald die Heizung wieder eingeschaltet wurde, nochmals, und zwar nach 90 Minuten, auf 39°. Beim Oeffnen zeigte Maximalthermometer I 56°, Maximalthermometer II 37° an. Maximalthermometer II hatte diesmal eine andere Lagerung: es wurde auf dem Fußboden neben Gruppe III ausgelegt. Von Probefäden waren verwendet: Milzbrand- und Baumwollesporen und Flexner-Bazillen. Also neben Probematerial von mittlerer widerstandsfähigkeit das widerstandsfähigste und das am wenigsten Widerstandsfähige.

Der Gesamtversuch war nach 152 Minuten = 2 Stunden 32 Minuten beendet und hatte folgendes Ergebnis: Die Milzbrand- und Flexner-Bazillen, die bei Gruppe I auf dem vorderen Gepäckträger am 5. Fenster unter 2 Wolldeckeschichten gelegen hatten, waren abgetötet. Ebenso zeigte der Flexnerfaden von Gruppe X, der auf Drigalski-Platten gebracht worden war, Abtötung. Der in Bouillon eingelegte Faden wuchs erst nach 48 Stunden aus, wies also eine leichte Wachstumshemmung auf. Die übrigen Proben sowie die Kontrollproben zeigten ungehemmtes Wachstum.

Versuch VII hat also gezeigt, daß schon durch die längere Einwirkung des Dampfes allein, ohne Formalin, Milzbrandsporen und selbstverständlich auch Ruhrbazillen abgetötet werden. Diese Abtötung erfolgte aber nur in den in der Höhe ausgelegten Proben der Gruppen I und X. Bei den beiden Proben der Gruppen III und IV war keinerlei Wirkung zu beobachten.

Nimmt man als Maßstab für die Anforderungen an ein brauchbares Desinfektionsverfahren nur das Verhalten der Milzbrandsporen an, so haben (vgl. Tabelle II) die Versuche III bis VI übereinstimmend Abtötung sämtlicher Milzbrandsporen ergeben und damit das Verfahren als genügend wirksam erwiesen.

Unsere Milzbrandsporen hatten nur eine Widerstandskraft von $^3/_4$ bis 1 Minute. Auf Grund früher von uns gemachter Erfahrungen ist es nur außerordentlich schwer und selten möglich, einen Milzbrandstamm zu erhalten, dessen Sporen wesentlich widerstandsfähiger sind. Wir haben Milzbrandsporenmaterial, das wir im Laboratorium mit der Angabe einer weit höheren Widerstandskraft vorfanden, geprüft und auch nur höchstens 1 Minute Widerstandskraft gefunden. Unsere Sporenfäden waren frisch angelegt. Eine Abschwächung durch Altern konnte also nicht in Frage kommen. Wir möchten beinahe zweifeln, ob nicht die anderweitig so häufig angegebene hohe Widerstandskraft der Milzbrandsporen auf irgendwie anderer Ausführung der Prüfung im Ohlmüller-Apparat beruht. Eine Prüfung im Fließpapiersäckchen, die man in Kochsche Dampfsterilisatoren einhängt, muß naturgemäß höhere Werte geben.

Um das Schneidtsche Verfahren auch gegenüber resistenteren Arten zu prüfen, nahmen wir außer Milzbrand- auch Gartenerde- und Baumwollesporen. Die an diesen Sporenarten gewonnenen Ergebnisse gestatten uns erst, unsere Versuche in bezug auf den Einfluß der verschiedenen Versuchsbedingungen zu vergleichen.

Wenn wir auf Tabelle II die verschiedenen „Gruppen“ oder die Lagerung der Probepäckchen miteinander vergleichen, so ergibt sich, daß wir, vom Versuch II abgesehen, vier Gruppen finden, bei denen in allen vier Versuchen III bis VI stets sämtliche 3 Arten von Sporenfäden abgetötet waren, nämlich die Gruppen V, VII, VIII und X.

Gruppe V, VIII und X liegen (vgl. Fig. 3) sozusagen in der Mitte des Dampf-Formalinstromes, sie konnten sehr bald und unmittelbar von den Dampfwolken getroffen werden. Gruppe VII hat mit Gruppe X die „Höhenlage“ gemeinsam. Die in dem Abortraum zu Gruppe VII gedrungenen Dampfwolken werden durch die abzuschließende Wand festgehalten, die Nähe der Einleitungsstelle wirkt auf die Gruppe VII begünstigend. Gruppe X kommt zwar hinsichtlich der Entfernung vom Dampfeintritt gleich nach der entferntest gelegenen Gruppe IV, aber sie ist „frei zugänglich“, da die Tür zum hinteren Raume des Wagens weit geöffnet ist.

Gruppen V und VIII sind zwar tiefer als VII und X ausgelegt, liegen aber bei

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

1,30 m Höhe immer noch direkt im Dampfstrom, der, wie von außen deutlich zu sehen war, bis fast zur Mitte des Wagens sich zunächst wagerecht von seiner 1,25 m hoch gelegenen Einströmungsöffnung ausbreitete.

Nur die widerstandsfähigste Art der Sporen, die Baumwollesporen, zeigten Wachstum bei den Gruppen I, II, VI und IX.

Das sind zunächst die beiden Gruppen, die unter Wolldeckeschichten ausgelegt waren, bei welchen also ihre günstige Höhenlage durch die Umhüllung einigermaßen wieder wettgemacht wurde. Die Gruppen VI und IX haben eine Höhenlage von 0,45 bzw. 0,80 m. Gruppe IX im Aschenbehälter ist besonders wenig günstig gelegen.

Außer den Baumwollesporen sind auch noch die mittelresistenten Gartenerdesporen gewachsen bei den Gruppen III und IV.

Das sind die beiden „Bodengruppen“. Hier kommen zwei schädigende Momente in Betracht: 1) bei ihnen bleibt naturgemäß die Erwärmung am weitesten zurück; 2) ihre Lage zum Dampfeinstrom ist ganz besonders ungünstig. Probe IV ist die entferntest gelegene von allen; Probe III liegt in jenem Winkel, der erst dann von den Dämpfen ganz erreicht wird, wenn der ganze übrige Raum erfüllt ist.

Ein Vergleich der einzelnen Versuche nach dem absteigenden Grade ihrer Ergebnisse führt zu folgender Reihe: Versuch III, V, IV, VI, II.

Versuch III zeigte das günstigste Ergebnis. Bei ihm war nur eine einzige Gartenerdesporenprobe und zwar die zur Gruppe IV gehörige am Leben geblieben.

Als nächsterfolgreicher Versuch ist Versuch V zu nennen, bei welchem an 3 Stellen, nämlich bei Gruppe I, IV und IX Wachstum der Baumwollesporen erfolgte. (Dazu bei I und IX ein verspätetes Wachstum.) Als nächstgünstiger Versuch ist Versuch IV zu nennen, bei welchem nur die beiden zu den Gruppen III und IV gehörigen Gartenerdesporenfäden und die Wattesporen zu Gruppe III und IX nicht abgetötet wurden. Es folgt Versuch VI, der dadurch hervorgehoben ist, daß bei ihm die Baumwollesporen an mehreren Stellen der Abtötung entgingen.

Die letzte Stelle in der Reihe nimmt Versuch II ein, bei welchem sich sogar die Milzbrandsporen von Gruppe II und IV als nicht abgetötet erwiesen.

Der Raumersparnis halber mußte davon abgesehen werden, für sämtliche Versuche die der Tabelle Ia entsprechenden Tabellen wiederzugeben.

Tabelle III bringt eine Uebersicht über die Versuchsbedingungen und die für die Beurteilung wichtigen zeitlichen Verhältnisse und Beobachtungen.

Gehen wir nunmehr die 5 Versuche in der eben aufgestellten Reihenfolge an der Hand dieser Tabelle III durch, so ist folgendes hervorzuheben:

Der günstigste Versuch III hat weitaus die längste Gesamtversuchsdauer (Spalte 18); Erwärmungszeit (Spalte 9) und Verschlußzeit (Spalte 10) betragen bei ihm 215 Minuten. Davon 210 Minuten von der Einleitung von Formalindämpfen an gerechnet[1]). Der Stand der beiden Maximalthermometer ist der höchste. Die Heizung war während 90 von den 120 Minuten der Verschlußzeit abgestellt. Die niedrigste abgelesene Temperatur während der Verschlußzeit war 32°.

---

1) Von der Summe der Spalte 9 und 10 muß die Zahl der Minuten abgezogen werden, um wieviel später der Formaldehyd dem Dampf beigemischt wurde, nämlich bei Versuch III 5 Minuten, bei Versuch V 3 Min., bei Versuch IV 5 Min., bei Versuch VI 15 Min., bei Versuch II 2 Min. (vgl. oben S. 408).

Tabelle III. Zu den Versuchen I—VII.

Versuch No.	Tag	Rauminhalt des Wagens in cbm	Verdampfte Formalinmenge (ccm)	auf 1 cbm	Außentemperatur a) zu Beginn b) zu Ende der Desinfektion Grad C	Temp. im Wagen bei Beginn der Einleitung des Dampfes (D.), bzw. Formalins (F.)	Dampf-Formalin eingeleitet bis Erreichung von n Grad C	Diese Temp. wurde erreicht nach n Minuten	Weitere Einwirkungsdauer n Minuten	Während des Verschlusses abgelesene (Temp. nach Minuten)	Ammoniakmenge ccm	= auf 1 cbm	Dauer der Ammoniakeinleitung	Temp. im Wagen a) bei Beginn b) am Schluß d. Ammoniakeinleitung	Maximalthermometer im Wagen		Gesamtdauer der Desinfektion (einschließlich Ammoniakeinleitung) = Spalte 9 + 10 + 14	Bemerkungen
															I	II		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
I	20. 10. 16	43,6	750	17,2	a) + 3,0° b) + 1,9°	D. ? F. 20°	60°	75′	90′	25′ 50° 55′ 40° 90′ 25°	—	—	—	—	62°	54,5°	165′ = 2 Std. 45′	Viehwagen ohne Heizung, keine Ammoniakeinleitung
II	27. 10. 16	80,0	1250	15,6	a) + 10,0° b) + 9,8°	D. 21° F. 22°	„	60′	120′	5′ 46° 120′ 41°	250	3,12	15′	a) 41° b) 54°	53,5°	55,2°	195′ = 3 Std. 15′	Personenwagen III. Kl. vorgewärmt, Heizung während des Versuches im Gang
III	10. 11. 16	„	„	„	a) + 9,5° b) + 8,5°	D. 15° F. 16°	„	95′	„	85′ 32° 100′ 34° 120′ 36°	„	„	10′	a) 36° b) 38°	65,5°	61°	225′ = 3 Std. 45′	Pers.-W. III. Kl. vorg. 90′ ohne } Heizung 30′ mit }
IV	17. 11. 16	„	„	„	a) — 3,2° b) — 2,8°	D. 15° F. 18°	„	57′	60′	50′ 28°	„	„	30′	a) 32° b) 48°	61°	58,5°	147′ = 2 Std. 27′	Pers.-W. III. Kl. vorg. 50′ ohne } Heizung 10′ mit }
V	24. 11. 16	„	„	„	a) + 4,0° b) + 5,5°	D. 18° F. 21°	55°	46′	90′	. .	„	„	20′	a) 32° b) 48°	61°	56,5°	156′ = 2 Std. 36′	Pers.-W. III. Kl. vorg. 80′ ohne } Heizung 10′ mit }
VI	1. 12. 16	„	800	10,0	a) + 1,0° b) + 1,5°	D. 13° F. 16°	„	65′	„	60′ 32°	600	7,5	15′	a) 40° b) 51°	48° (?)	51,2°	170′ = 2 Std. 50′	Pers.-W. III. Kl. vorg. 60′ ohne } Heizung 30′ mit }
VII	4. 12. 16	80,0	—	—	a) + 3,6° b) + 4,2°	D. 20°	55°	62′	90′	2′ 53° 3′ 49° 8′ 46° 23′ 47° 58′ 31° 73′ 34° 90′ 39°	—	—	—	—	56°	37° (andere Lagerung)	152′ = 2 Std. 32′	Kontrollversuch ohne Formalin, vorgewärmt, 60′ ohne } Heizung 30′ mit }

Versuch V hat die viertlängste Gesamtdauer an Zeit in Anspruch genommen, um mehr als eine Stunde weniger als Versuch III. Davon 133 Minuten Formalineinwirkung. Die Höchsttemperatur war nur 55°, die Verschlußzeit 90 Minuten, hiervon 80 Minuten ohne Heizung. Eine Temperaturablesung während der Verschlußzeit war leider nicht möglich.

Versuch IV wurde bei der kältesten Außentemperatur vorgenommen. Daher ist das Wachstum von Sporenproben bei den 3 an den Außenwänden gelegenen Gruppen III und IV (die Bodengruppen!) und IX verständlich. Dauer der Formalineinwirkung 112 Minuten, Höchsttemperatur 60°, Verschlußzeit nur 60 Minuten, hiervon 50 ohne Heizung. Niedrigste Temperatur während der Verschlußzeit 28°.

Versuch VI hatte die niedrigste Formalingabe von nur 10 ccm auf 1 cbm Raum. Dauer der Formalineinwirkung 140 Minuten, also von den so günstig verlaufenen Versuchen II—VI die drittlängste. Höchsttemperatur 55°, dafür aber die „Verschlußzeit“ wieder 90 Minuten, hiervon nur 60 Minuten ohne Heizung. Niedrigster Stand der abgelesenen Temperatur während der Verschlußzeit 32°, also gleich wie bei Versuch III.

Bei diesem Versuche sind nur die Baumwollesporen abgetötet worden, die an den begünstigsten Stellen oder Gruppen (s. o.) ausgelegt waren. Auffallend war der niedrige Stand von Maximalthermometer I und II, nämlich 48 bzw. 51,2°.

Der Ausfall des Versuches VI erweckte den Eindruck, als ob zur Abtötung der Baumwollesporen gerade der Formaldehydgehalt des Dampfes sehr wesentlich wäre.

Versuch II zeigt die zweitlängste Gesamtversuchszeit von allen Versuchen, nur um 30 Minuten kürzer als bei dem günstigsten Versuch III. Ebenso die zweitlängste Formalineinwirkungsdauer, nämlich 178 Minuten, Höchsttemperatur 60°, Verschlußzeit 120 Minuten, aber während dieser ganzen Verschlußzeit war die Heizung im Gang. Daher auch die niedrigste Temperatur während des Verschlusses 41°, die höchste von allen Versuchen. Auch die Ausgangstemperatur bei Beginn der Beladung ist die höchste von allen Versuchen. Der Stand der Maximalthermometer auffallend niedrig.

Durch die Vergleichung der Versuche nach Versuchsbedingungen und Ergebnissen haben sich also nur ganz allgemeine Gesichtspunkte gewinnen lassen. Daß längere Versuchsdauer und Formalineinwirkungszeit, ebenso der höhere Formalingehalt die Ergebnisse begünstigen, liegt auf der Hand. Besonderen Nachdruck möchten wir aber darauf legen. daß uns durch den Versuch II einerseits und die Versuche III—VI als „Gegenproben“ andererseits ein deutlicher Hinweis darauf erbracht zu sein scheint, daß es sich empfiehlt, die Heizung während des größten Teiles der Verschlußzeit auszuschalten. Für die Erzielung der wirksamen Temperatur des im Wagen vorhandenen Dampf-Formalin-Luftgemisches reicht die Heizung an sich ja doch nicht aus. Gerade bei Versuch II — mit durchgehender Heizung —, bei Versuch VI und VII mit je 30 Minuten Heizung am Schluß der 90 Minuten betragenden Verschlußzeit war der Stand der Maximalthermometer besonders niedrig.

Die Angaben der Maximalthermometer erfordern noch ein weiteres Eingehen.

Es ist zu beachten, daß das Maximalthermometer I unmittelbar neben Gruppe II gelegen war. Die beiden Versuche II und VI sind die einzigen, bei welchen die Abtötung der zu dieser Gruppe gehörigen Testobjekte eine mangelhafte war, und gleichzeitig ist bei diesen Versuchen der Stand des Maximalthermometers ein wesentlich niedrigerer gewesen als bei den Versuchen III, V und IV. Aber innerhalb der Versuche II und VI besteht insofern ein Widerspruch, daß bei Versuch II trotz der höheren Maximaltemperatur die Milzbrandsporen gewachsen, bei Versuch VI trotz der niedereren Temperatur abgetötet waren. Ein Vergleich der Angaben von Maximalthermometer I mit dem von II ergibt bei den Versuchen III, IV und V das nicht überraschende Verhalten, daß das höher gelegene Maximalthermometer I eine höhere Temperatur anzeigt als Maximalthermometer II. Bei den Versuchen II und VI ist aber dieses Verhältnis umgekehrt. Eine Erklärung hierfür können wir schwer finden. Man könnte zunächst an eine zufällige etwas andere Lagerung auf dem Gepäckträger oder Gepäcknetz denken. Gegen diese Annahme spricht aber der Umstand, daß in beiden Ver-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

suchen II und VI auch das niedriger ausgelegte Maximalthermoter II hinter der am Fenster abgelesenen Höchsttemperatur zurückblieb, während bei den Versuchen III, IV und V Maximalthermometer I stets, Maximalthermometer II in 2 Versuchen eine höhere Temperatur als das Fensterthermometer zeigte, und bei Versuch IV nur um $1^1/_2$° hinter diesem zurückblieb.

Besonders auffallend ist, daß bei Versuch VI die neben dem nur 48° anzeigenden Maximalthermometer I gelegenen Milzbrand- und Gartenerdesporen der Gruppe II abgetötet waren.

Nachträglich müssen wir daher den Verdacht aussprechen, es habe in diesem Falle eine von uns nicht beobachtete Störung des Thermometers vorgelegen.

Doch alle diese Erwägungen treten zurück neben dem **Gesamtergebnis** unserer Versuche, daß das Schneidtsche Verfahren **als ein hervorragend wirksames Desinfektionsverfahren** bezeichnet werden muß, das neben Sicherheit der Wirkung die Vorzüge der Einfachheit, Raschheit und Billigkeit besitzt.

Für die praktische Ausführung möchten wir folgende Richtpunkte emfehlen:

1) Falls entsprechende Temperatur nicht schon im Wagen vorhanden, Vorwärmung auf 16—20° C.

2) Eine Verwendung von 10 ccm 35-proz. Formalins auf je 1 cbm Rauminhalt.

3) Dampf-Formalineinleitung bis zu einer an einem seitlichen Mittelfenster abgelesenen[1]) Temperatur von 55°.

4) $1^1/_2$-stündiger Verschluß des Wagens, wobei während der ersten 60—80 Minuten die Heizung abzustellen und erst wieder 30—10 Minuten vor der Ammoniakeinleitung einzuschalten ist.

Natürlich wird eine Steigerung der Formalingabe von 10 auf 15 ccm für 1 cbm Raum die Wirkung nur erhöhen.

Die Einwirkung des Schneidtschen Verfahrens auf Läuse konnten wir aus äußeren Gründen nicht prüfen. Wie in der Schneidtschen Veröffentlichung näher ausgeführt ist, kommt es hier vor allem darauf an, daß im ganzen Wagen eine Temperatur von über 50° erreicht wird. Demgegenüber müssen wir leider darauf hinweisen, daß bei uns in zwei Fällen, bei Versuch VI und beim ergänzenden Versuch VII, die Maximalthermometer niedrigere Temperaturen anzeigten. Auf die Angabe des Maximalthermometers I bei Versuch II möchten wir aus den oben angeführten Gründen kein weiteres Gewicht legen. Wohl aber können wir nicht daran vorübergehen, daß bei Versuch VII das Maximalthermometer II nur 37° anzeigte. Eine Erklärung für die niedrige Temperatur ist sofort gegeben, wenn man bedenkt, daß das Thermometer bei diesem Versuche auf dem Fußboden dicht neben der Gruppe III in der „ungünstigsten" Ecke gelegen hatte und daß an jenem Tage die Außentemperatur nur + 3,6 bis 4,2° betrug.

Zur warmen und heißen Jahreszeit liegen die Verhältnisse viel günstiger.

Bei Desinfektionen, die während der kalten Jahreszeit ausgeführt werden, wird man aber damit rechnen müssen, daß die beiden Fußbodenecken neben der Stirnwand gefährdete Punkte, einen Locus „majoris" resistentiae, darstellen. Bei Wagen, deren Verlausung feststeht oder zu befürchten ist, würde man also entweder mit der „Höchsttemperatur" auf 65—70° steigen und die Verschlußzeit auf 2 Stunden verlängern müssen, oder es wäre folgendes Vorgehen zu empfehlen:

Bevor man die Tür auf der Stirnseite, durch deren ausgehobenes Schloß der Dampf eingeleitet werden soll, schließt, schickt man Dampf durch den Apparat und behandelt die beiden gefährlichen Ecken direkt mit dem Dampfstrahl aus dem mit den Händen gehaltenen Schlauch.

---

[1]) Es sei nochmals auf die auf S. 404 angegebene einfache und zweckmäßige Befestigungsvorrichtung des Thermometers hingewiesen.

Oder es wäre auch daran zu denken, der Dampfausströmungsdüse eine derartige Gestaltung zu geben, daß das Desinfektionsgemisch oder ein Teil desselben wirbel- und fächerförmig heraustritt und sich so von der Eintrittsstelle aus nach den Seiten hin besser verteilt.

Die Eigenart der Läuse, sich vorzugsweise an warmen Stellen, in der Nähe des menschlichen Körpers, aufzuhalten und Nisse abzulegen, wird von vornherein die tatsächliche Gefahr, die durch diese von der Desinfektion schwerer erreichbaren Stellen gegeben ist, auf ein Mindestmaß herabdrücken. (G. C.)

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

v. Boèr, W., Eine Darminfektion des Menschen, verursacht durch den Hühnercholerabacillus, S. 390.

Burckhardt, J. L., Die Begeißelung als differential-diagnostisches Merkmal in der Fluorescens-Gruppe, S. 321.

Johan, B., Ueber Typhusbazillen-Eiterungen, S. 340.

Lange, Ludwig, und **Werz, E.**, Versuche über die Desinfektion von Eisenbahnwagen nach dem Schneidtschen Verfahren, S. 398.

Lorey, Alexander, Ueber Influenzameningitis, S. 357.

Prell, Heinrich, Die Vielgestaltigkeit des Bacterium coli, S. 324.

Rullmann, W., Weitere Angaben über die Unterscheidung der drei Genera Cladothrix, Streptothrix und Actinomyces, S. 383.

Saul, E., Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. XX. Mitteilung, S. 371.

Schürmann, W., und **Modde, L.**, Ueber die neue sero-chemische Reaktion bei Syphilis von Bruck, S. 362.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 79. Heft 7.

Ausgegeben am 31. Juli 1917.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Gasbrand- und Rauschbrandbazillen, mit besonderer Berücksichtigung ihres serologischen Verhaltens und ihrer Veränderlichkeit.

[Aus dem Königlichen Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ zu Berlin (Abteilungsvorsteher: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Neufeld).]

Von Dr. **Hans Landau.**

Im Jahre 1889 hat Kitasato (1) seine grundlegenden Untersuchungen über den Rauchbrandbacillus veröffentlicht; er beschreibt dessen Züchtung, insbesondere auf festen Nährböden, und legt seine Erfahrungen über die biologischen Eigenschaften des Bacillus nieder. In seiner zweiten Arbeit hat Kitasato bereits die immunisatorischen Beziehungen zwischen Rauschbrand und malignem Oedem im Anschluß an einen früher von Roux (2) beschriebenen Versuch näher untersucht. Roux hatte behauptet, daß gegen Rauschbrand schutzgeimpfte Meerschweinchen oft auch gegen malignes Oedem geschützt seien, während umgekehrt die Immunisierung gegen letztere Krankheit nicht gegen den Rauschbrand schütze; dagegen fand Kitasato, daß 20 gegen Rauschbrand schutzgeimpfte und mit lebender Kultur nachgeprüfte Meerschweinchen sämtlich der Infektion mit malignem Oedem erlagen. In zwei ausgezeichneten Arbeiten haben dann Leclainche und Vallée (3) die morphologischen und kulturellen Merkmale der Rauschbrandgruppe genau behandelt, vor allem aber die immunisatorischen Verhältnisse dargelegt, nachdem bereits an großen Tieren die aktive Immunisierung von Arloing und seinen Mitarbeitern Cornevin und Thomas, die passive Immunisierung von Kitt mit Erfolg angewendet worden war. Besonders bemerkenswert ist die Erfahrung Leclainche und Vallées, daß der Erreger des malignen Oedems, der der Rauschbrandgruppe nahesteht, sehr oft zu Mischinfektionen Veranlassung gibt, die zu Verwechslungen führen können, daß es aber sicher gelingt, denselben durch Agglutination und wechselseitige Immunisierung vom Rauschbrand zu differenzieren. Ein Rauschbrand-Pferdeserum vom Titer 1:6000 agglutinierte die Bazillen des malignen Oedems nicht einmal in der Verdünnung 1:10. Es ist sehr auffallend, daß diese exakten Untersuchungen von den späteren Beobachtern, wie v. Hibler (4) u. a., gar nicht beachtet und weiter verfolgt worden sind, während ein sehr eingehendes Studium den morphologischen und kulturellen Merkmalen zuteil wurde, wie z. B. der Sporenbildung und der Beweglichkeit oder der Gramfärbbarkeit; zahlreiche neuere Untersuchungen haben aber gezeigt, wie wenig konstant diese Eigenschaften zu sein pflegen. In neuerer Zeit hat Kitt (5) die Ansichten Kitasatos und Leclainche und Vallées bestätigt, daß malignes Oedem eine serologisch scharf vom Rauschbrand trennbare Gruppe darstellt.

Bei den im Kriege über Gasbrand erschienenen Arbeiten von Conradi und Bieling (6), Selter (7), Eugen Fraenkel (8), Aschoff (9) in Gemeinschaft mit seinen Mitarbeitern finden sich keine genauen

Angaben über die so wichtigen serologischen Verhältnisse. Erst Fürth (10) hat sich eingehend mit dieser Frage befaßt. In seiner Arbeit kommt er zu dem Ergebnis, daß gewisse Stämme von Gasbranderregern von den spezifischen Rauschbrandseris sowohl bezüglich der Agglutination, als auch der Schutzwirkung im Tierkörper beeinflußt werden, daß aber die Gasbrandgruppe serologisch nicht einheitlich ist; auch ist die Agglutination Schwankungen unterworfen, die bis zum völligen Verluste der Agglutinabilität führen können. Außerdem hat Fürth auf die Veränderlichkeit der morphologischen und kulturellen Eigenschaften hingewiesen und darauf aufmerksam gemacht, daß dabei die Züchtung auf zucker- oder eiweißhaltigen Nährböden eine große Rolle spielt. Er hat aus einem Stamm 2 verschiedene Typen von Gasbrandbazillen isolieren können, die einen waren schlank und beweglich und hatten große Neigung zur Sporenbildung, die anderen waren plump und unbeweglich und bildeten keine Sporen. Beide Typen waren für Mäuse und Kaninchen virulent; sie wurden gegenseitig durch agglutinierende Sera beeinflußt. Es ist Fürth gelungen, beide Typen durch Uebertragung auf den Zucker- bzw. Eiweißnährboden wechselseitig ineinander überzuführen. Nach Fürth haben Conradi und Bieling (11) in eingehenden Versuchen die kulturellen und Agglutinationsverhältnisse untersucht; auch sie haben zunächst Veränderungen der kulturellen Merkmale festgestellt. Sie haben 2 Formenkreise der Gasbrand-, Rauschbrand- und malignen Oedemgruppe aufgestellt, den vegetativen Kreis bei Züchtung auf Traubenzuckeragar (A-Kreis) und den sporogenen bei Züchtung auf Rinderserum (B-Kreis). Die Bazillen in der A-Form sollen unbeweglich und nicht sporentragend sein, sich aber durch hohe Pathogenität auszeichnen, die in der B-Form sollen durch Beweglichkeit, Sporenbildung und herabgesetzte Virulenz charakterisiert sein; daneben wurden noch weitere Unterschiede auf verschiedenen anderen Nährböden beobachtet. Durch wenige Passagen soll es stets gelingen, die Bazillen des A-Kreises in die B-Form überzuführen, was umgekehrt nicht immer der Fall sei. Was nun die Agglutinationsverhältnisse betrifft, so fanden Conradi und Bieling, daß alle Angehörigen des A-Kreises, gleichgültig, ob sie zur Gasbrand-, Rauschbrand- oder malignen Oedemgruppe gehören, von einem Serum, das mit irgendeinem Vertreter der A-Form hergestellt worden ist, in gleicher Weise beeinflußt werden, ebenso sämtliche Stämme der B-Form von jedem beliebigen B-Serum; dagegen sollen die B-Kulturen von den A-Seris nicht oder nur sehr gering, dann aber alle gleichmäßig mitagglutiniert, die A-Stämme von den B-Seris regelmäßig, aber auch nur in geringer Höhe, und zwar wieder ohne Unterschied, mitbeeinflußt werden.

Diese von Fürth, sowie von Conradi und Bieling beschriebenen Veränderungen haben wir an mehreren uns zur Verfügung stehenden Stämmen weiterverfolgt und dabei vor allem die von den letztgenannten Untersuchern angegebenen Umwandlungen unter dem Einflusse des Nährbodens nachgeprüft. Wir verfügten über 1 maligne Oedemkultur, 2 Rauschbrandkulturen („Kitt“ und „Schütz“) und 2 Gasbrandkulturen („Brügge“ und „Colmar“). Der Stamm Brügge ist derselbe, den Fürth in seiner Arbeit als Gasbrand K 641 beschrieben hat. Diese Stämme haben wir mehrere Monate nach Conradis Methode in 2 Reihen fortgezüchtet, auf Traubenzuckeragar (vegetativer A-Kreis) und auf in hoher Schicht aufrecht erstarrtem Rinderserum (sporogener B-Kreis). Die Umwandlung ist bei 4 von unseren Kulturen gelungen; die Serumröhrchen wurden anfangs erst nach 3—4 Tagen, in späteren Generationen schon nach 48 Stunden deutlich verflüssigt; die Bazillen waren beweglich und trugen teils Mittel-, teils endständige Sporen. Sowohl die Beweglichkeit als auch die Sporenbildung konnten wir aber auch bei der Fortzüchtung im A-Kreis beobachten, aber nicht so regelmäßig wie im B-Kreis; was die Form der Erreger betrifft, so waren in dieser Hinsicht des öfteren keine deutlichen Unterschiede zwischen den beiden Kreisen festzustellen. Somit handelt es sich bei unseren Kulturen im Grunde nur um graduelle Unterschiede zwischen A- und B-Form. Die Gasbrandkultur Colmar ließ sich überhaupt nicht auf Rinderserum züchten, konnte also nur in der A-Form untersucht werden.

Bezüglich der Virulenz konnten wir Conradi und Bielings Angaben, daß nur der A-Kreis pathogen sei, an unserem Material und bei Prüfung an Mäusen (die übrigens in Fürths Versuchen durchaus mit den Ergebnissen der Meerschweinchenversuche übereinstimmte) nicht bestätigen. Der Gasbrandstamm Brügge, bei dem auch serologisch eine strenge Differenzierung erzielt wurde, wovon noch weiter unten genauer die Rede sein wird, bot in der A- und B-Form keinen Virulenzunterschied; 0,02 ccm Traubenzuckerbouillonkultur Brügge A und die gleiche Menge Brügge B töteten bei subkutaner Applikation am Oberschenkel weiße Mäuse innerhalb von 24 Stunden unter typischem Befund. Ich möchte hervorheben, daß sowohl die hierbei, also auch die bei den Agglutinationsversuchen benutzten B-Kulturen sämtlich anfangs über 8, später weit über 25 Passagen innerhalb des B-Kreises hinter sich hatten, während Conradi und Bieling ihre Umwandlungen zunächst bei Abimpfung von der 4. bis 5., dann von der 8. bis 10. Generation beobachteten. Unsere übrigen Stämme konnten auf Virulenzunterschiede nicht geprüft werden, da sie in A- und B-Form auch bei Einspritzung von 0,5 ccm Kultur für Meerschweinchen und Mäuse avirulent waren.

Die Züchtung der Kulturen auf Traubenzuckeragar machte uns anfangs große Mühe; die Stämme bildeten kein Gas, wuchsen nur kümmerlich und hielten sich nur wenige Tage. Erst als wir zur Weiterzüchtung einen Traubenzuckeragar nahmen, der aus 1-proz. Agar mit Zusatz von 1 Proz. Traubenzucker bestand, wie ihn Klose (12) empfohlen hat, konnten wir üppiges Wachstum, starke Gasbildung und längere Lebensfähigkeit erzielen. Auch die Züchtung der Stämme in Bouillon verursachte zuerst Schwierigkeiten; regelmäßiges Wachstum erreichten wir dann in einer 2-proz. Traubenzuckerbouillon mit und ohne Zusatz von Organstückchen nach Tarozzi; dieselbe durfte aber keinesfalls sauer sein, da sonst das Wachstum dieser anaëroben Stämme unterbleibt.

Die Agglutinationen wurden nach 1—1$^1/_2$-stündigem Aufenthalt der Röhrchen im 37° Brutschrank abgelesen, dann in den meisten Fällen noch einmal nach 24-stündigem Verbleiben bei Zimmertemperatur. Nach dieser Zeit hatten sich aber die Reaktionen niemals geändert, so daß man die Agglutination nach 1-stündigem Verweilen bei 37° als abgeschlossen betrachten kann.

Uns standen 5 spezifische Sera zur Verfügung; das erste war Rauschbrandserum „Höchst", die 4 anderen waren von uns selbst durch intravenöse Injektionen mit den betreffenden Stämmen hergestellte Kaninchensera, nämlich Gasbrand Brügge A-Serum, Gasbrand Brügge B-Serum, Rauschbrand Kitt B-Serum und malignes Oedem A-Serum.

In der nachfolgenden Tabelle sind die Resultate unserer Agglutinationen zusammengestellt.

Unser Gasbrandstamm Brügge entsprach hiernach insoweit den Angaben Conradis, als er in der A-Form mit Höchster Serum bis 1:800, mit Brügge A-Serum bis 1:1600 agglutinierte, in der B-Form hingegen mit diesen beiden Seris gar nicht. Nach Conradi und Bieling hätten

Stamm	Sera				
	Brügge A	Brügge B	Kitt B	Höchst	Mal. Oed. A
Gasbrand Brügge A	1:1600 +	1:800 ±	—	1:800 +	—
Gasbrand Brügge B	—	1:1600 +	—	—	—
Rauschbrand Kitt A	—	—	1:1600 +	—	—
Rauschbrand Kitt B	—	—	1:1600 +	—	—
Mal. Oedem A	—	—	—	—	1:3200 +
„ „ B	—	—	—	—	1:3200 +
Rauschbrand Schütz A	1:1600 +	1:800 +	—	1:800 +	—
Rauschbrand Schütz B	1:200 +	—	1:800 ±	1:400 +	—
Gasbrand Colmar A	—	—	—	1:100 + (Kontrolle ±)	—

nun diese beiden A-Sera sämtliche Stämme des A-Kreises gleichmäßig beeinflussen sollen; das ist aber nicht der Fall, denn malignes Oedem A sowie Kitt A und Colmar A wurden von ihm gar nicht agglutiniert. Die von Conradi und Bieling vertretene Auffassung ist also zum mindesten nicht allgemein gültig. Umgekehrt aber agglutinierte malignes Oedem A-Serum nicht Brügge A, auch nicht Schütz A und Kitt A, sondern nur malignes Oedem, dieses aber gleichmäßig in A- und B-Form. Auch Kitt B-Serum und Brügge B-Serum haben malignes Oedem in keiner Form agglutiniert; die Auffassung von Kitasato und Leclainche und Vallée, wonach malignes Oedem vom Rauschbrand immunisatorisch zu trennen ist, besteht daher, soweit die von uns untersuchten Stämme in Frage kommen, zu Recht. Diese Anschauung gründet sich aber, wie oben ausgeführt wurde, nicht nur auf Agglutinationsversuche, sondern auch auf zahlreiche Erfahrungen mit aktiver und passiver Immunisierung, die unseres Erachtens in größerem Umfange nachgeprüft werden müßten, bevor man ein endgültiges Urteil in dieser Frage abgibt. Die Möglichkeit von Umwandlungen und Uebergangsformen zwischen beiden Gruppen möchten wir keineswegs in Abrede stellen, um so weniger, als wir selbst bei dem Rauschbrandstamm Kitt eine sehr weitgehende serologische Veränderung beobachtet haben (s. u.).

Aus der Tabelle ergibt sich weiterhin, daß die serologische Differenzierung zwischen A- und B-Form bei dem Gasbrandstamm Brügge nicht vollständig ist, denn Brügge B-Serum agglutiniert die A-Form des eigenen Stammes beinahe ebenso stark wie die B-Form, in anderen Fällen zeigten A- und B-Form gar keinen Unterschied. So wird Rauschbrand Kitt durch ein Kitt B-Serum in der A- und B-Form gleich hoch beeinflußt, und ebenso verhalten sich, wie schon erwähnt, malignes Oedem A und B gegenüber einem A-Serum dieses Stammes. Eine Mittelstellung zeigte der Rauschbrandstamm Schütz; er wurde in der A-Form von Höchst- und Brügge A-Serum bis 1:800, bezw. 1:1600 agglutiniert, in der B-Form nur bis 1:400, bzw. 1:200. Gegenüber dem Brügge A-Serum war die Differenzierung also ziemlich stark, beim Höchster Serum dagegen ergab sich nur eine ganz geringe Differenz.

Ein besonderes Interesse bietet der Rauschbrandstamm Kitt. Er wird in der A- und B-Form nur durch sein eigenes, nicht aber durch eines der 4 fremden Sera beeinflußt, so daß er also ebenso isoliert dazustehen scheint, wie die maligne Oedem-Kultur. Andererseits agglutiniert auch das Kitt B-Serum keine der fremden Kulturen, außer Rauschbrand Schütz, und zwar diese entsprechend der Regel von Conradi und Bieling nur in der B-Form. Nun ist aber die Kultur Kitt nicht nur ein echter Rauchbrandstamm, sondern dieselbe Kultur hat früher bei den Untersuchungen von Fürth mit einem Gasbrand-Brügge- und einem Höchster Rauschbrandserum gut agglutiniert; der Stamm hat also seine Agglutinabilität vollkommen verloren, er ist aber nicht etwa serumfest geworden, sondern hat andere, eigene Rezeptoren erworben, und nur die Beeinflussung der Kultur Schütz, und zwar ausschließlich der B-Form, durch Kitt B-Serum ist als einziges Zeichen einer Rezeptorengemeinschaft mit der Rauschbrandgruppe übriggeblieben. Ebenso isoliert stand bei den Untersuchungen von Fürth der Gasbrandstamm Conradi da, der nur auf sein eigenes Serum reagierte, ferner die Kultur Rauschbrand Schleswig und Gasbrand Colmar; da mit diesen letzteren jedoch keine agglutinierenden Sera hergestellt wurden, ist es zweifelhaft, ob es sich um serumfeste Stämme im eigentlichen Sinne des Wortes oder um Kulturen mit eigenen Rezeptoren handelte.

Im ganzen erscheinen nach unseren Untersuchungen und den früheren von Fürth die Agglutinationsverhältnisse erheblich komplizierter, als von Conradi und Bieling angenommmen wird; allerdings läßt sich zweifellos mit der von diesen Autoren angegebenen Methodik zuweilen die merkwürdige Spaltung in 2 Typen mit verschiedenem Agglutinationskreis erzielen, aber diese Veränderungen treten durchaus nicht regelmäßig ein, in manchen Fällen bleiben sie ganz aus, in anderen Fällen sind sie unvollständig, und in keinem Falle konnten wir Conradi und Bielings Beobachtungen bestätigen, daß ein mit einer Kultur des einen Formenkreises gewonnenes Serum sämtliche Angehörigen dieses Kreises agglutiniert. Andererseits sahen wir durchaus ähnliche und anscheinend ebenso willkürliche und unregelmäßige Veränderungen spontan im Laufe der Zeit auftreten.

Die Gruppe der Gasbrand- und Rauschbrandkulturen zeigt also, wie zuerst von Fürth beobachtet wurde, eine besondere Neigung zur Veränderlichkeit in serologischer Beziehung. Aehnliche Veränderungen sind aber auch bei anderen Bakterien beobachtet worden. Vor allem sei an die bekannten Beobachtungen von Sobernheim und Seligmann (13) erinnert, die aus Paratyphus B- und Gärtner-Bazillen durch allmähliche Umwandlung neben verschiedenen Uebergangstypen Kulturen entstehen sahen, die keine Rezeptorengemeinschaft mehr mit den Ausgangsstämmen erkennen ließen; sie agglutinierten nur noch mit ihrem eigenen Serum, das seinerseits die Ausgangsstämme nicht mehr beeinflußte. Daß sich auch bei den weit beständigeren Typhusbazillen weitgehende serologische Veränderungen erzielen lassen, zeigen die Beobachtungen von Bernhardt (14). B. konnte aus Typhusstämmen Varietäten abspalten, die durch Typhusserum teils nur schwach, teils gar nicht mehr agglutiniert wurden. Diese Stämme waren aber nicht serumfest, da sie durch ihr Eigenserum agglutiniert wurden, andererseits hatten sie auch noch gemeinsame Rezeptoren mit der Typhusgruppe, da die mit ihnen erzeugten Sera typische Typhusstämme ebenso gut agglutinierten, wie den eigenen Stamm. In anderen Fällen verhielten sich jedoch abgespaltene Varietäten von Typhus noch unregelmäßiger. So schien eine Varietät (Typhus Ohlig IV) sowohl die Agglutinabilität, als auch die Fähigkeit zur Agglutininbildung gänzlich eingebüßt zu haben. Sie wurde durch verschiedene hochwertige Typhussera nicht agglutiniert, und ein mit ihr gewonnenes Serum beeinflußte weder den eigenen Stamm, noch eine Reihe anderer Typhusstämme. Schließlich fand sich aber in beiden Richtungen je eine Ausnahme; der Stamm wurde nämlich durch ein mit einer bestimmten, aus einem anderen Typhusstamm abgespaltenen Varietät (Lydorf III) hergestelltes Serum bis 1:400 ($^1/_5$ des Titers) agglutiniert, und sein eigenes Serum agglutinierte eine Varietät des Typhusstammes 151 bis 1:3200. Die von Bernhardt untersuchten Typhusstämme zeigten daneben in der Regel auch anderweitige, zum Teil hochgradige Veränderungen bezüglich der Beweglichkeit, der Kolonieform usw. Doch konnte „eine gesetzmäßige Beziehung zwischen den kulturellen und morphologischen Veränderungen einerseits und den serologischen Schwankungen andererseits nicht festgestellt werden“. Diese Beobachtungen entsprechen in den meisten Punkten, insbesondere was die anscheinende Regellosigkeit der serologischen Veränderungen betrifft, durchaus den von uns bei der Gasbrandgruppe gefundenen Verhältnissen, während das von Conradi und Bieling beschriebene regelmäßigere Verhalten mehr den Veränderungen gleichzustellen wäre, wie sie Bordet und Sleeswijk (15) beim Keuchhustenbacillus fanden, den sie durch Züchtung auf Blutagar, bzw. auf gewöhnlichem Agar in 2 agglutinatorisch ganz verschiedene Typen trennen konnten. Es mag freilich dahingestellt bleiben, ob in diesem Fall genügend zahlreiche Versuche vorliegen, um den Einfluß des Nährbodens auf das serologische Verhalten als streng gesetzmäßig hinzustellen.

Auch in einer weiteren Hinsicht entsprechen unsere Beobachtungen bei der Rauchbrand- und Gasbrandgruppe den Typhusversuchen von Bernhardt, sowie den früher von Neufeld und Lindemann (16) und den neuerdings von Braun und Feiler (19) und Feiler (20) mitgeteilten Befunden, darin nämlich, daß die einzelnen Funktionen der Immunsera bei den Veränderungen miteinander nicht notwendig parallel gehen. So kann ein nichtagglutinierender Typhusstamm im bakteriziden Plattenversuch sehr stark beeinflußt werden oder umgekehrt, und die Beeinflussung durch spezifische Bakteriotropine und im Pfeifferschen Versuch ist wiederum unabhängig von der durch die bakteriziden Antistoffe. Gerade beim Typhus liegen offenbar sehr verwickelte Verhältnisse vor. Wie die Beobachtungen vom Schlemmer (17) und Neufeld und Lindemann zeigen, treten im bakteriziden Plattenversuch alle Abstufungen von völliger Serumfestigkeit bis zu hochgradiger Empfindlichkeit zutage. Dabei scheinen aber, entgegen dem Verhalten bei der Agglutination, die serumfesten Stämme in der Regel gegen alle Immunsera fest, die empfindlichen gegenüber allen Seris empfindlich zu sein. Dr. v. Daranyi hat in einer durch den Krieg unterbrochenen Arbeit in unserem Institut die Versuche noch erweitert, indem er die Beeinflussung verschiedener Typhusstämme durch bakterizide Ambozeptoren, die Bakteriotropine, die Opsonine und das Komplement getrennt untersuchte; er fand, daß die genannten 4 Serumstoffe verschiedene Typhusstämme nicht gleichmäßig, sondern ganz unregelmäßig beeinflußten, d. h. ein bestimmter Typhusstamm zeigt sich z. B. gegenüber dem bakteriziden Ambozeptor hochgradig resistent, dagegen sehr empfindlich gegen die Komplement- und Tropinwirkung, usw.

Wir kommen damit auf eine von Conradi und Bieling noch gar nicht behandelte, praktisch wichtige Frage, ob durch die Züchtung der Kulturen im A- bzw. B-Kreis Veränderungen der Schutzwirkung der Sera gegenüber den Erregern hervorgerufen werden. Unser Brügge A-Serum hatte keine genügend sichere Schutzwirkung, dagegen war dies bei dem Höchster Serum der Fall, wie aus den nachfolgenden Tabellen zu ersehen ist.

	Maus No.	Höchster Rauschbrandserum	Kultur: Gasbrand Brügge A	Erfolg
Serum tags zuvor intraperitoneal	1	0,5 ccm	0,1 ccm subkutan	† innerhalb 72 Stdn.
	2	0,5 „	0,1 „ „	lebt
	3	0,5 „	0,1 „ „	„
Serum, gemischt mit Kultur subkutan	4	0,1 ccm	0,1 ccm subkutan	lebt
	5	0,1 „	0,1 „ „	„
	6	0,1 „	0,1 „ „	„
Kontrollen ohne Serum	7	—	0,1 ccm subkutan	† innerhalb 24 Stdn.
	8	—	0,05 „ „	† „ 24 „
	9	—	0,02 „ „	† „ 24 „

	Maus No.	Höchster Rauschbrandserum	Kultur: Gasbrand Brügge B	Erfolg
Serum tags zuvor intraperitoneal	1	0,5 ccm	0,1 ccm subkutan	† innerhalb 24 Stdn.
	2	0,5 „	0,1 „ „	lebt
	3	0,5 „	0,1 „ „	„
Serum, gemischt mit Kultur subkutan	4	0,1 ccm	0,1 ccm subkutan	lebt
	5	0,1 „	0,1 „ „	„
	6	0,1 „	0,1 „ „	„
Kontrollen ohne Serum	7	—	0,1 ccm subkutan	† innerhalb 24 Stdn.
	8	—	0,05 „ „	† „ 24 „
	9	—	0,02 „ „	† „ 24 „

Bei den Versuchen mit Höchster Serum ergab sich also, daß das Serum im Tierkörper sowohl gegen Gasbrand Brügge A als auch gegen Gasbrand Brügge B deutlich schütze, während es nur den Stamm Brügge A agglutiniert hatte, Brügge B hingegen nicht. Die Schutzwirkung der Sera im Tierversuch geht somit nicht parallel mit der Agglutination. Schon **Fürth** hatte einen Rauschbrandstamm Schleswig beschrieben, der nicht agglutinierte, im Tierversuch aber durch dieselben Sera wie die agglutinierenden Stämme der Rauschbrand- und Gasbrandgruppe beeinflußt wurde. Auch unser Gasbrand Brügge B-Serum schützte deutlich gegen beide Brügge-Formen, die es allerdings auch agglutinatorisch ziemlich gleich stark beeinflußte. Wir erhielten nun den Stamm Brügge noch in einer dritten Modifikation von Herrn Reg.-Rat Dr. Ungermann zurück, dem wir ihn früher überlassen hatten; er war von ihm inzwischen in Traubenzuckerbouillon mit 10 Proz. Serumzusatz weiter gezüchtet worden. Auch gegen diese Modifikation schützt das Höchster Serum im Mäuseversuch vollkommen; dabei agglutinierte die Kultur mit Höchster Serum bis 1:100, mit Brügge A- und B-Serum bis 1:100, bzw. 1:200. Sie nimmt also eine Mittelstellung zwischen unseren Kulturen Brügge A und Brügge B ein.

Unsere jetzigen Befunde zeigen, daß bei Aenderung des agglutinierenden Verhaltens eine entsprechende Veränderung der Schutzstoffe nicht einzutreten braucht; daß eine solche Veränderung in anderen

Fällen eintreten kann, ist natürlich nicht auszuschließen, und daß die ganze Gruppe unserer Anaëroben auch bezüglich der Schutzwirkung des Immunserums nicht einheitlich ist, indem sich zunächst die als malignes Oedem bezeichneten Stämme ganz abweichend von den Rauschbrandstämmen verhalten, ist nach den Untersuchungen von Kitasato, Leclainche und Vallée und Kitt nicht zu bezweifeln.

Zum Schluß sei noch hervorgehoben, daß die große Veränderlichkeit und die starken Unregelmäßigkeiten im serologischen Verhalten, wie wir sie bei den Stämmen unserer Gruppe fanden, und wie sie sonst, besonders bei der Paratyphus B- und Gärtner-Gruppe, gefunden wurden, nicht etwa von vornherein bei jeder Bakterienart zu erwarten sind, bei der überhaupt serologisch verschiedene Typen auftreten. Völlig anders liegen z. B. die Verhältnisse bei den Pneumokokken. Diese zerfallen, ohne irgend sonstige Unterschiede im kulturellen Verhalten oder in der Virulenz zu zeigen, in eine Anzahl serologisch völlig verschiedener Typen; diese Typen zeigen aber nach den Beobachtungen von Neufeld und Händel (18), die durch die eingehenden neuen Arbeiten amerikanischer Autoren durchaus bestätigt werden, keinerlei Uebergangsformen, ferner gingen in allen bisher untersuchten Fällen Agglutination und Schutzwirkung des Serums im Tierversuch sowie die Tropinwirkung in vitro durchaus parallel, und schließlich ist niemals eine Veränderung des serologischen Verhaltens beobachtet worden, auch nicht, wie ich hinzufügen darf, bei im Jahre 1909 von Neufeld und Händel gezüchteten Stämmen verschiedenen Typs, die noch jetzt im hiesigen Laboratorium aufbewahrt werden.

Zusammenfassung.

1) In Uebereinstimmung mit den älteren Untersuchern (Kitasato, Leclainche und Vallée) und den neueren (Fürth) lassen sich immunisatorisch mehrere Gruppen der anaëroben Wundinfektionserreger unterscheiden; Rauschbrand und Gasbrand lassen sich vom malignen Oedem, aber auch verschiedene Stämme der Rauschbrand- und Gasbrandgruppe untereinander lassen sich serologisch sicher trennen.

2) Wie schon Fürth fand, ist aber die Agglutination nicht konstant, sondern Veränderungen unterworfen, die bis zum völligen Verlust der Agglutinabilität gehen können. Ein mit einem derart veränderten Stamm hergestelltes Serum beeinflußt mitunter ausschließlich den eigenen Stamm.

3) Zuweilen kann man solche agglutinatorischen Veränderungen auf dem von Conradi und Bieling angegebenen Wege durch Züchtung auf Traubenzuckeragar (Formenkreis A) und Rinderserum (Formenkreis B) erreichen, in anderen Fällen tritt aber durch diese Methode keine Aenderung ein, in wieder anderen lassen sich diese Umwandlungen nur in geringem Grade erzielen.

4) Conradi und Bielings Angabe, daß durch die von ihnen angegebene Methode alle Stämme, einschließlich des malignen Oedems, in der A-Form untereinander, ebenso wie alle Stämme in der B-Form untereinander serologisch identisch würden, konnten wir nicht bestätigen. Bei einem Stamm von malignem Oedem konnten wir überhaupt keine Veränderung im serologischen Verhalten erzielen.

5) Die Schutzwirkung des Immunserums im Tierversuch ging in unseren Beobachtungen nicht parallel mit der Agglutinationswirkung.

6) Die Aenderungen in den morphologischen und kulturellen Merkmalen durch Züchtung auf Eiweiß- oder Zuckernährböden, wie sie schon von **Fürth** beobachtet und von **Conradi** und **Bieling** bei einer bestimmten Methode regelmäßig erzielt worden sind, besonders was Sporenbildung, Beweglichkeit und Verflüssigung des Serumröhrchens anlangt, können wir bestätigen; Virulenzunterschiede zwischen dem Formenkreise A und dem Kreise B haben wir bei einem darauf untersuchten Stamme nicht feststellen können. Auch fanden wir nicht so sehr schroffe Unterschiede zwischen den Kulturen in den beiden Formen, als vielmehr graduelle Verschiedenheiten und mannigfache Uebergänge.

Literaturverzeichnis.

1) **Kitasato**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. S. 105 u. Bd. 8. S. 55.
2) **Roux**, Ann. de. l'Inst. Pasteur. 1888. No. 2.
3) **Leclainche et Vallée**, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1900. p. 202 u. 513.
4) v. **Hibler**, **Kolle-Wassermann**. Bd. 4.
5) **Kitt**, **Kolle-Wassermann**. Bd. 4.
6) **Conradi u. Bieling**, München med. Wochenschr. 1916. No. 4, 5, 28 u. 29.
7) **Selter**, Deutsch. med. Wochenschr. 1915. No. 40.
8) **Fraenkel Eugen**, München. med. Wochenschr. 1915. No. 45 u. 1916. No. 13.
9) **Aschoff**, Deutsch. med. Wochenschr. 1916. No. 16 u. 17.
10) **Fürth**, München. med. Wochenschr. 1916. No. 32.
11) **Conradi u. Bieling**, München. med. Wochenschr. 1916. No. 44 u. 45.
12) **Klose**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 82. S. 197.
13) **Sobernheim u. Seligmann**, Zeitschr. f. Immunitätsforschung Bd. 6. u. 7, u. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 50. Beih.
14) **Bernhardt**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 79. S. 219—223.
15) **Bordet et Sleeswijk**, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1910.
16) **Neufeld u. Lindemann**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 45. Beih. S. 229.
17) **Schlemmer**, Zeitschr. f. Immunitätsforschung Bd. 9.
18) **Neufeld u. Händel**, **Kolle-Wassermann**. Bd. 4.
19) **Braun u. Feiler**. Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Bd. 21.
20) **Feiler**, ebenda Bd. 24.

Nachdruck verboten.

Veränderungen von Bakterien im Tierkörper.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität Prag.]

XIII. Versuche mit abgeschwächten Milzbrandbazillen im Meerschweinchenkörper.

Von **Oskar Bail** und **T. Flaumenhaft.**

In einer Reihe von vorhergegangenen Mitteilungen (dieses Centralblatt. Abt. I. Orig. Bd. 75. No. 2; Bd. 76. No. 1 u. 5) wurden Versuche über die Abschwächung von Milzbrand bei erhöhter Wärme mitgeteilt, wobei Wärme höherer Grade (48—52°) entweder nur eine kurze Zeit einwirkte, oder niedere Wärmegrade verwendet wurden, die noch Wachstum der Bazillen zuließen und lange Zeit einwirkten. Die letztere Art gibt viel sicherere Ergebnisse, die aber stets nur einzelne Bazillen betreffen, d. h. bei Züchtung einer Reihe von Einzelkolonien aus einer etwa bei 42° gehaltenen Zucht erweist sich niemals die ganze Zucht als abgeschwächt, sondern nur eine mehr minder große Zahl von Einzelstäbchen, die bei der Weiterzüchtung in der Regel ihren Abschwächungsgrad beibehalten. So erweist sich eine bei 42° herangewachsene oder auch eine bei 37° erhaltene und dann erwärmte Zucht als ein recht buntes Gemisch von nicht abgeschwächten und in verschiedenem Grade abgeschwächten Einzelbazillen, das nur durch Einzelauslese und gesonderte Weiterzüchtung der ausgelesenen Kolonien erkannt werden kann. Diese, zunächst von Preisz festgestellte, Tatsache wurde in allen Versuchen bestätigt gefunden; allerdings ist bei lange fortgeführter Züchtung bei Wärmegraden von 42° die Zahl der von der Abschwächung betroffenen Bakterien eine so erhebliche, daß man Mühe haben kann, unter ihnen noch vollinfektiöse zu finden. Aber auch dann läßt sich an dem verschiedenen Grade der Abschwächung, welchen die einzelnen Stäbchen für sich und in ihrer Nachkommenschaft erfahren haben, die Mischung des „Vaccins" erkennen.

Bei der strengen Beziehung, die zwischen Infektiosität und der im Serum verschiedener Tiere außerhalb des Tierkörpers leicht zu erzielenden Kapselbildung besteht, gibt die Beobachtung dieser ein sehr brauchbares Mittel für die Erkennung des Abschwächungsgrades ab.

In dieser Hinsicht wurde früher festgestellt, daß man Abschwächungsgrade etwa in folgender Art unterscheiden kann: der infektiöse Milzbrand bildet in Serum stets reichlich Kapseln, oft so gut wie ausschließlich, daß man Mühe hat, in einer etwa 16 Stunden alten Zucht in flüssigem Serum andere als „tierische" Bazillen zu finden. Auch wenn daneben nackte Fäden vorkommen, ist man bei der Beobachtung des Präparates wohl nur selten in Zweifel, was man vor sich hat. Daß nicht in allen Fällen nur bekapselte Bazillen, wie etwa in den ersten Zeiten der Infektion im Tiere, gefunden werden, erklärt sich leicht aus der allmählich stattfindenden Erschöpfung des Serums und hat ein Vergleichsstück im Tierkörper, welcher der Infektion erlegen ist und wo man in der Milz alle Stadien der Kapselbildung vorfinden kann.

Den geringsten Grad der Abschwächung stellen Stämme dar, welche bei der Aussaat in Serum nur teilweise tierisch werden, wobei aber solche Bildungen in jedem Gesichtsfelde der Immersion mehrfach auftreten. Sie zerfallen wieder in solche, welche bei wiederholter Züchtung auf Serum die Kapselbildung wieder zurückerlangen, also kaum als abgeschwächt bezeichnet werden können, und solche, welche diesen teilweisen Verlust der Kapselbildung außerhalb des Tieres nie mehr ausgleichen. Hierher gehört eine ganze Anzahl der in einer früheren Arbeit beschriebenen Stämme (dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 76. S. 341) und auch der schon zu Beginn der Versuche (dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 76. S. 43) beschriebene Stamm C, von dem noch weiter ausführlich die Rede sein wird.

Ebenfalls häufig ergeben sich bei längerer Züchtung bei 42° Stämme, die in Serum so gut wie keine Kapseln bilden, wo man lange suchen muß, um schließlich eine oder die andere tierische Bildung aufzufinden. In der Regel treten diese in ganz merkwürdiger Weise so auf, daß an oft sehr langen, ganz nackten Fäden einzelne Glieder an den Enden oder im Verlauf des Fadens sich bekapseln. Dabei können sie so selten sein, daß man gelegentlich erst in mehreren Serumzuchten ein oder das andere solche Gebilde findet. Auch diese sonderbare Form der Abschwächung, die dem Verständnisse der Vererbung nicht geringe Schwierigkeit bietet, ändert sich bei dauernder Serumzüchtung nicht und geht bei erzwungenem Aufenthalte im Tierkörper nicht in die Stammform zurück.

Anscheinend am seltensten lassen sich Stämme erhalten, deren Vermögen, in Serum tierisch zu wachsen, ebenso wie ihre Infektiosität, dauernd verloren ist, sich auch in Hunderten von Serumzuchten nicht wieder einstellt und ebensowenig durch Aufenthalt im Tierkörper wiedergewonnen werden kann. Dabei zeigen die beiden einzigen derart erhaltenen Stämme A und D insofern eine Verschiedenheit, als A stets nur in Form von dicken Einzelstäbchen und ganz kurzen Ketten wächst, während D, ebenso wie die vorerwähnten Stämme (Typus E), lange, oft verknäuelte Fäden im Serum bildet.

Es mußte von Interesse sein, derartige, schon früher eingehend beschriebene Stämme nach längerer Ruhepause neuerlich zu untersuchen. Dieselben sind über 2 Jahre ohne besondere Vorsichtsmaßregeln in der Weise aufbewahrt worden, daß sie alle 2 Monate auf Agar frisch überimpft, auf 20 Stunden zum Anwachsen bei 37° und dann bis zur nächsten Uebertragung bei Zimmertemperatur, vor Licht geschützt, sonst aber ohne besondere Vorsichtsmaßregeln, aufbewahrt wurden. Es konnte also bei den langen Zwischenräumen der Ueberimpfungen der Einfluß, den das Altern auf die Entstehung von „Mutationen" ausübt, durch mindestens 12—15 Generationen auf die Massenkultur zur Geltung kommen.

Die neue Untersuchung begann mit der Gewinnung von Agarkolonien, von denen eine Anzahl auf Serum übertragen und untersucht wurde. Von da erfolgte eine Rückübertragung auf Agarplatten, Abimpfung auf Serum usf. durch 6 Folgen. Dabei stellte sich heraus, daß gegen die Befunde mehr als 2 Jahre vorher keinerlei Aenderung eingetreten war. Die Kolonien auf Agar entsprachen durchaus dem bekannten Aussehen der regelrechten Milzbrandkolonien, ohne daß sich damals die so weit auseinanderstehenden Stämme hätten unterscheiden lassen. Auf Serum bildeten die Stämme A und D niemals tierische Formen, wobei, wie erwähnt, D lange Fäden bildete, A nur in Einzelstäbchen oder kurzen Ketten wuchs, wobei die verhältnismäßig dicken Stäbchen oft leichte Unregelmäßigkeiten der Form (leichte Keulen oder Spindelformbildung) und ungleichmäßige Färbung zeigten. Der Stamm E wuchs in langen Fäden mit nur vereinzelten tierischen Gliedern, während der Stamm C diese sehr häufig, oft im Gesichtsfelde der Immersion, mehrfach aufwies. Alle Formen des abgeschwächten Milzbrandes waren also ganz unverändert erhalten geblieben.

Ueberaus interessante Ergebnisse hatte nun die Untersuchung des auf den Meerschweinchenkörper verimpften Stammes C, der in dieser Hinsicht noch wenig bearbeitet war.

Der Stamm ist jedenfalls nur ein Beispiel für das Verhalten jener zahlreichen Abschwächungsformen des Milzbrandes, die schon bei verhältnismäßig kurzer Züchtung bei 42° entstehen und dadurch gekennzeichnet sind, daß sie in Serum überwiegend nackte Kulturfäden bilden, denen sich aber häufig tierische Bildungen beimengen. Von solchen kann ein Teil, wie erwähnt, schon bei der Züchtung in Serum zum durchaus tierisch werdenden Ausgangsstamm zurückschlagen, sehr viele Stämme haben aber diesen teilweisen Kapselbildungsverlust erblich erhalten. Bei den früheren Versuchen erwiesen 2 derartige Formen (dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 76. S. 341), bei denen die Kapselbildung besonders reichlich war, sich bei 18maliger Serumzucht als beständig.

Zum Versuche wurde die Impfung von Meerschweinchen unter die Haut der Leistengegend angewendet; in bestimmten Zwischenräumen wurde durch Entnahme mittels feiner Glaskapillaren das Schicksal der eingeimpften Bakterien im mikroskopischen Ausstriche und auf Agarplatten verfolgt.

Meerschweinchen 2 erhielt am 1. Februar 1 ccm Rinderserumzucht der 6. neuen Folge (immer abwechselnd Serum und Agar) des Stammes C unter die Haut. Das mikroskopische Bild der eingespritzten Serumzucht bot den gewöhnlichen Befund von Fäden ohne Kapseln mit vereinzelten kapselhaltigen Gliedern und nicht seltenen, ganz tierischen Einzelstäbchen und kurzen Fäden dar.

Nach 8 Stunden deutliches weiches Oedem an der Impfstelle mit wenigen Leukocyten und fast in jedem Gesichtsfelde mehrfachen, ausgesprochen tierischen Bazillen. Auf der Agarplatte gingen zahlreiche, typische Kolonien auf, von denen 10, auf Rinderserum übertragen, wieder weit überwiegend kapsellose Kulturformen mit nicht seltenen tierischen Bildungen hervorbrachten.

Nach 24 Stunden erwies sich das Oedem als sehr verbreitert, weich. Mikroskopisch fanden sich zahlreiche Leukocyten und zahlreiche, ausgesprochen tierische Bazillen. Die Platte ergab sehr viele typische Kolonien, von denen 10, auf Serum übertragen, den bezeichnenden Befund für den Stamm C lieferten.

Nach 48 Stunden war das ursprüngliche Oedem zu einem länglichen, derben Infiltrat geworden, das bei der Entnahme eine eitrige Flüssigkeit mit massenhaften Leukocyten ergab. Bazillen waren zahlreich, aber nur zum Teil tierisch, mit mächtigen, oft lückenhaft gefärbten Kapseln, zum anderen Teil ganz kapselfrei, oft zu ganz dünnen Stäbchen und Fäden geworden. Diese unterliegen einer im ganzen mäßigen Phagocytose, die von großen, plasmareichen Zellen ausgeübt wird. Kontakt wurde gleichfalls beobachtet. Die Plattenzucht ergab etwa 200 typische Kolonien, von denen 12 in Serum das gewöhnliche Wachstum ergaben.

Nach 72 Stunden erschien das Infiltrat verkleinert und ergab blutig-eitrige Flüssigkeit mit zahlreichen Leukocyten. Bazillen so zahlreich, daß über ihre Eigenvermehrung kein Zweifel bestehen konnte, dabei aber nur zum kleinen Teil wirklich tierisch, meist ganz kapselfreie, mitunter etwas dickere Stäbchen und Kurzfäden, die einer häufigen Phagocytose unterliegen. Die Platte lieferte nur etwa 60 Kolonien, von denen wieder 12, in Serum übertragen, das bezeichnende Wachstum des Stammes ergaben.

Nach 96 Stunden ergab die Entnahme aus dem weiterbestehenden Infiltrat blutigen Eiter mit häufiger, oft mehrfacher Phagocytose und zahlreichen, freien Bazillen, die wieder zu einem großen Teil ausgesprochen tierisch ausgebildet waren. Die Platte ergab in großer Zahl Kolonien, die in keiner Weise von dem gewohnten Bilde des Stammes abwichen. 24 davon lieferten in Serum den gewöhnlichen Befund; eine irgend bemerkliche Zunahme der tierischen Bildungen war nicht wahrzunehmen.

Das Tier starb in der folgenden Nacht, nach etwa 110—120 Stunden. Blutig-eitriges Infiltrat, von der Leiste gegen den Mittelbauch ziehend, nur an einer Stelle, gegen die Leistendrüse zu, mit schwacher Oedembildung, die an den gewöhnlichen Befund bei Milzbrand erinnerte. Milz stark vergrößert, weich, schwarz, Leber blutreich. Im Infiltrate fanden sich in Menge Leukocyten mit häufiger Phagocytose kapselloser Bazillen und Fäden, freie Bazillen nicht übermäßig reichlich, meist dick und ohne deutliche Kapseln, oft schlecht gefärbt, rein tierische Formen meist zerfallen und kaum gefärbt. Im angrenzenden Oedem fanden sich nur wenige Bazillen, die aber ausgesprochen tierisch waren. In Milz und Leber waren die Bazillen zahlreich, sicher tierisch, aber mit nur wenig entwickelten Kapseln (ein Befund, der auch bei nicht abgeschwächtem Milzbrand nach dem Tode des Tieres vorkommt). Ebenso sahen die zahlreichen Bazillen des Herzblutes aus.

Auf den angelegten Agarplatten aus Oedem gingen in großer Zahl ausschließlich Kolonien auf von der Größe und dem bezeichnenden Aussehen typischer Milzbrandkolonien. Auf den Platten aus dem Infiltrat der Impfstelle, der Milz, Leber und Herzblut, erschienen 2 deutlich unterschiedene Kolonieformen, zunächst die typischen Milzbrandformen, wie sie auch dem Stamm C, mit dem die Impfung vorgenommen war, eigen sind, und viel kleinere, die auf den etwa 18 Stunden alten Platten höchstens $1^1/_2$—2 mm Durchmesser erreichten, zu einer Zeit, wo die anderen, dem typischen Milzbrand entsprechenden Kolonien bis 5 und mehr mm Durchmesser hatten. Ein weiterer, und zwar der wichtigste Unterschied bestand in der viel dichteren Zeichnung, indem die parallelen, gewellten Fäden, aus denen die Kolonie besteht, sehr dicht standen und nur an den Randteilen der Kolonie gut erkennbar waren, womit die eigentümliche Rauheit der Oberfläche wesentlich gemildert wurde, derart, daß die Kolonien oft einen gewissen matten, wachsartigen Glanz hatten. Es sei gleich erwähnt, daß bei Aelterwerden der Platte zwar die Kolonien dieser als *a* bezeichneten Form an Durchmesser zunehmen, aber an der Dichtheit ihres Gefüges, der verhältnismäßigen Glätte der Oberfläche und der dadurch bedingten, einer Halbkugel etwas genäherten Form sofort zu erkennen sind. Bei kleinen, jungen Kolonien fiel überdies oft das Ausstrahlen unregelmäßiger Ausläufer auf. Am schönsten sind die nicht leicht zu beschreibenden, aber sofort zu erkennenden Besonderheiten an ganz einzelnstehenden Kolonien zu merken, während beim Zusammenfließen mehrerer Kolonien zu einem Impfstriche mehr eine Annäherung zum gewöhnlichen Milzbrandwachstum eintritt. Leicht unterscheidbar ist überdies das Wachstum im Gelatinestich, wo Milzbrand, der Stamm C und die großen, als β bezeichneten Kolonien aus Oedem und den anderen Organen von Meerschweinchen 2 im Stichkanal mit den bekannten bürstenartigen Ausläufern wachsen, während der Stich der Form α solche niemals aufweist und nur aus fast weißen, dichten Massen sich zusammensetzt. Was das Mengenverhältnis betrifft, in dem die beiden Formen auftraten, so wies, wie erwähnt, das Oedem nur die β-Form auf; im Infiltrate und Herzblute überwog die kleine Form α, in Leber und Milz waren beide ungefähr gleich zahlreich.

Der Stamm C hatte somit noch hinreichend Infektiosität, um ein Meerschweinchen von der Haut aus septikämisch zu töten, wobei freilich der Krankheitsverlauf und auch der Todesbefund, namentlich an der Impfstelle, von dem des gewöhnlichen Milzbrandes weit abwich.

Dabei hatte sich aber der ursprünglich einheitlich erscheinende Stamm C in 2 gut trennbare Formen, α und β, gespalten, deren Beständigkeit zunächst zu prüfen war.

Die erste Ueberimpfung fand von den Agarplatten (I. Zuchtfolge) aus, die mit den Organen von Meerschweinchen 2 angelegt waren, statt. Es wurden je 5 Kolonien der α- und β-Form aus Herz, Leber, Leiste und Milz, insgesammt also 20 Kolonien von α und ebenso viele von β, in Rinderserum übertragen (I. Serumfolge) und nach 20-stündigem Wachstum untersucht. Dabei ergaben sich nur Schwierigkeiten bei der Abimpfung aus der mit Leistenmaterial angelegten Platte, wo die Kolonien sehr dicht gestanden hatten, so daß eine wirklich reine Abimpfung der durcheinander wachsenden beiden Formen nicht gewährleistet war.

Die mikroskopische Untersuchung der Serumzucht ergab nun zwischen den 2 Formen ebenfalls Unterschiede insofern, als die Form α vorwiegend längere Fäden bildete, in denen nur einzelne Glieder zur Kapselbildung schritten; in geringer Zahl fanden sich kurze Fäden, die vollständig tierische Formen annahmen. Im Gegensatz dazu wuchs die Form β fast nur in kurzen Fäden mit ungemein häufigen, aber nicht durchaus tierischen Bildungen. Es sei gleich erwähnt, daß dieses Kennzeichen im allgemeinen durch die späteren Zuchtfolgen beibehalten wurde, doch sind die Unterschiede nicht so auffallend, daß auf das Serumwachstum allein hin die eine Form als α, die andere als β hätte mit Sicherheit angesprochen werden können. Das entscheidende Merkmal war immer das Wachstum auf der Agarplatte.

Alle 20 Serumzuchten der Form β ergaben auf der Agarplatte (also II. Agarfolge) rein und ausschließlich β; von den 20 Serumzuchten von α wuchsen 19 rein und kennzeichnend als α, nur eine wies sowohl α- als β-Formen auf. Sie entstammte aber der mit Leistenmaterial angelegten Platte, so daß von vornherein eine unreine Abimpfung angenommen werden konnte. Um aber sicher zu gehen, wurde von dieser Platte eine Abimpfung von 5 α- und ebensoviel β-Kolonien vorgenommen, und die gewachsenen Zuchten wurden neuerdings auf Agar übertragen, worauf in zwei Folgen sich α und β ganz rein erhielten. Von den Platten der II. Agarfolge, auf denen sich α und β als rein erwiesen hatten, wurden zur III. Serum und dann Agarfolge je 7 Kolonien verwendet, dann zu den nächsten je 5 bis zur VII. Zuchtfolge. Während dieser ganzen Zeit verhielten sich beide Formen rein und beständig, d. h. aus α ließen sich immer nur α-Kolonien, aus β solche von β erhalten.

Es war somit tatsächlich während des Aufenthaltes im Meerschweinchenkörper eine Spaltung des anscheinend einheitlichen Stammes C in 2 ganz reine und beständige Formen erfolgt. Um zu sehen, ob diese Trennung nicht auch außerhalb des Tierkörpers eintritt und nur früher übersehen wurde, was bei nur seltenem Auftreten der α-Form ja leicht hätte geschehen können, wurde C neuerlich einer 5-fachen Serum- und Agarfolge unterzogen; es kam dabei aber zu keinem Auftreten von α, und nur die bekannten Kümmerformen, die bei genauer Untersuchung fast jedem Bacillus zukommen, wurden beobachtet.

Es lag von vornherein nahe, den Tod von Meerschweinchen 2 auf die eingetretene Spaltung des Stammes C zurückzuführen. Damit schien der Umstand übereinzustimmen, daß die β-Form sich sowohl im Aussehen der Kolonien, als auch namentlich in der starken, wenn auch nicht durchgreifenden Kapselbildung in Serum dem nicht abgeschwächten Milzbrande näherte. Der Tod des Tieres wäre somit eine Folge des Auftretens infektiösen Milzbrandes, der nicht durch Umwandlung des abgeschwächten Stammes C, sondern durch neue Abspaltung aus demselben entstanden wäre. Darüber konnten nur neue Tierversuche Aufschluß geben.

Impfungen mit der β-Form hatten zunächst folgendes Ergebnis:

Meerschweinchen 10 erhielt 0,5 ccm Serumkultur, die unmittelbar aus einer Kolonie der β-Form der mit Herzblut von Meerschweinchen 2 angelegten Platte erhalten war, unter die Haut der Leiste. Wider Erwarten zeigte sich am nächsten Tage keinerlei Erscheinung an der Impfstelle, das Tier starb aber in der Nacht, nach weniger als 48 Stunden. In der Leiste fand sich, außer geringer Drüsenschwellung, keine Veränderung, Ausstriche der Drüse zeigten nur selten schlecht gefärbte Bazillen. In der Bauchhöhle war etwas zähes, trübeitriges Exsudat vorhanden, welches viele Leukocyten und viele Bazillen, teilweise in Ketten mit tierischen Bildungen, enthielt. Die Milz war vergrößert, weich, blutreich, ebenso die Leber. In beiden, sowie auch im Herzblute, fanden sich zahlreiche Bazillen, in der Mehrzahl ausgesprochen tierisch, kurz das Bild eines gewöhnlichen Milzbrandtodes.

Agarplatten wurden mit dem (anscheinend unveränderten) Unterhautgewebe von der Impfstelle, mit Leistendrüse, Peritonealexsudat, Leber, Milz und Herzblut angelegt und ergaben bei reichlichem Wachstum nur Kolonien von Typus β.

Bei der Impfung dieses Tieres war offenbar der seltene Zufall eingetreten, daß die Spitze der Impfnadel in die Bauchhöhle eingedrungen, also eine intraperitoneale Infektion erfolgt war. Der rasche Tod und der Befund erinnerten durchaus an den nach einer Impfung mit nicht abgeschwächtem Milzbrand.

Meerschweinchen 12 erhielt 0,5 ccm Serumzucht der β-Form der III. Serumfolge unter die Haut der Leiste.

Nach 24 Stunden fand sich ein von der Leiste zum Bauche hinaufziehendes Oedem vor, das bei der Entnahme trübe Flüssigkeit mit zahlreichen, meist kleinen, polynukleären Leukocyten lieferte. Bazillen fanden sich darin zahlreich, meist aber nicht sehr ausgeprägt, tierisch. Hier und da fand sich auch Phagocytose vor. Auf Agarplatten wuchsen zahlreiche Kolonien, alle von β-Form; Ueberimpfung von 12 solchen auf Serum ergab reichlich, aber keineswegs durchaus tierische, Bildungen.

Das Tier starb, wie No. 10, nach weniger als 48 Stunden. An der Impfstelle fand sich ein eitriges Infiltrat, umgeben von sehr wenig Oedem, vor, die Milz war stark vergrößert, weich, fast schwarz, ebenso die Leber.

Mikroskopisch fanden sich im Infiltrate massenhaft Leukocyten, darunter große, polynukleäre mit Phagocytose kapselloser Milzbrandbazillen. Freie Bazillen waren zahlreich, oft nur schwach gefärbt, zweifellos tierisch, doch die Kapsel oft nur schwach entwickelt. Ebenso zeigten die die Milz massenhaft erfüllenden Milzbrandfäden, ebenso wie die in der Leber, zwar sicheren, aber nicht besonders stark ausgesprochenen tierischen Charakter. Auch im Herzblute waren meist schwach gefärbte Einzelbazillen und kurze Fäden häufig.

Die Züchtung auf Agarplatten ergab aus Infiltrat, Milz und Herz reichlich und ausschließlich Kolonien der β-Form, die ihre Kennzeichen bei nochmaliger Uebertragung über Serum auf Agarplatten rein beibehielten.

Im ganzen scheint somit die Tierimpfung zu ergeben, daß die aus dem Stamme C abgespaltene β-Form, die in allen Stücken den Befund des ursprünglichen Stammes C darbietet, sich von ihm durch die unverkennbar größere Infektiosität unterscheidet. Dafür spricht einerseits die verhältnismäßig kurze Lebensdauer der Versuchstiere, andererseits die schwere Septikämie, der sie erlagen. Es würde also hier einer jener Fälle vorliegen, wo nach Einimpfung eines künstlich abgeschwächten Stammes aus dem toten Tiere der infektiöse, ursprüngliche Stamm wieder herausgezüchtet wird. Träfe das zu, so würde aber auch bewiesen sein, daß die Wiedererlangung der Infektiosität nicht etwa darauf beruht, daß die eingeimpften, abgeschwächten Bazillen sich (nach Zugrundegehen einer Anzahl von Individuen) einfach umwandeln, sondern darauf, daß der abgeschwächte Stamm aus sich heraus den infektiösen wieder abspaltet.

Es muß aber hervorgehoben werden, daß manches gegen die Auffassung der β-Form als eines wieder infektiös gewordenen Milzbrandes spricht. Zunächst der Befund von Eiterung an der Impfstelle, weiter aber das Wachstum in Serum, das nicht so sehr dem eines infektiösen Milzbrandes, als vielmehr dem des ursprünglichen Stammes C entsprach; die tierischen Bildungen waren zwar häufig, aber noch lange nicht so, wie bei einem nicht abgeschwächten Stamme.

Noch größeres Interesse bot die genauere Untersuchung der neuentstandenen α-Form.

Meerschweinchen 9 erhielt 0,5 ccm der Serumzucht, die unmittelbar aus einer Kolonie der α-Form der mit Herzblut von Meerschweinchen 2 angelegten Agarplatte gewonnen war, unter die Haut der Leiste.

Nach 24 Stunden fand sich ein ziemlich starkes Infiltrat in der Leiste, von da, gegen den Bauch ziehend, schwaches, aber deutliches Oedem. Die Entnahme aus dem Infiltrat ergab weißtrübe Flüssigkeit mit sehr vielen polynukleären Zellen, hier und da mit Phagocytose kapselloser Bazillen. Freie Bazillen zahlreich, zum weitaus größten Teile ausgesprochen tierisch, viel seltener kapsellose Kulturformen. Auf den angelegten Agarplatten wuchsen zahlreiche Kolonien von reinstem Typus α.

Nach 48 Stunden vergrößerte Drüse mit derber Schwellung, die bis zum Unterbauche zieht; die Entnahme ergibt trübrote Flüssigkeit mit zahlreichen roten Blutkörperchen und polynukleären Leukocyten, hier und da mit Phagocytose, welche tierische, aber bis zu Schatten abgeblaßte Bazillen betrifft. Freie Bazillen spärlich, als längere Fäden, ausgesprochen tierisch, aber dabei mehr oder minder abgeblaßt und zerfressen, mitunter in Kontakt mit Zellen. Züchtung ergibt etwa 50 Kolonien von reinstem α-Typus. 10, auf Serum, und 4, von da auf Agarplatte (also zweite Zuchtfolge) übertragen, stimmen in allen Merkmalen mit der α-Form überein.

Nach 72 Stunden beschränken sich die Erscheinungen auf ein schwaches Infiltrat, das bei der Entnahme grautrübe Flüssigkeit mit roten Blutkörperchen und Leukocyten ergibt. Von Bazillen wurde nur ein tierischer „Schatten“ gefunden, dieser in Kontakt mit einer Zelle. Die angelegten Platten ergaben keinen Milzbrand.

Nach 96 Stunden ergibt das deutliche Infiltrat blutig-trübe Flüssigkeit ohne Bazillen; auf der Platte gehen aber etwa 80 Kolonien auf, meist groß, vereinzelt, aber auch klein, von dichter Zeichnung und verhältnismäßig glatter Oberfläche. Die vorhandenen 9 kleinen und dazu 9 große, die das Wachstum des ursprünglichen Stammes C zeigen, wurden auf Serum übertragen. Die ersteren ergaben Wachstum in langen Fäden mit vereinzelten tierischen Gliedern, die letzteren meist kurze, sehr oft tierische Fäden. Je 4 von den Serumkulturen der großen und der kleinen Kolonien, auf Agarplatten überimpft, zeigten, daß alle Zuchten der großen den Typus von C oder β bewahrt hatten, während 3 der Zuchten von den kleinen Kolonien rein und ausschließlich den Typus α darstellten; auch eine als klein abgeimpfte Kolonie zeigte nach dem Serumwachstum den Typus von β. Eine nochmalige Uebertragung von je 2 Kolonien des α- und β-Typus über Serum auf Agarplatten ergab die Reinheit beider. Es hatte sich also in der Zeit von etwa 90 Stunden im Tiere aus der α-Form wieder die β-Form abgespalten.

Nach 120 Stunden ist das Infiltrat vergrößert und reicht hoch am Bauche hinauf. In der entnommenen blutigen Flüssigkeit finden sich zahlreiche, kurze, rein tierische Fäden. Die auf der Agarplatte aufgegangenen, etwa 300 Kolonien sind bis auf 3, welche klein und verhältnismäßig glatt sind, reiner Typus β. Ueber eine Serumzucht angelegte Platten der 3 kleinen und 3 großen Kolonien bestätigen die Reinheit der beiden Formen.

Nach 144 Stunden wurden bei gleich gebliebenem Krankheitsbefunde bei der Entnahme weder Bazillen gesehen, noch durch Zucht nachgewiesen.

Nach 168 Stunden war das Infiltrat wieder gewachsen; in der eitrig-trüben Flüssigkeit fanden sich in mäßiger Zahl tierische Fäden mit mächtigen, öfter stark vakuolisierten Kapseln. Die damit angelegte Agarplatte lieferte etwa 300 Kolonien, alle vom reinsten β-Typus; die Form α war nicht mehr zu finden.

Das Tier starb nach 180—190 Stunden, merklich abgemagert. Von der Gegend der Leistendrüse bis zur Hälfte des Bauches hinauf reichte ein blutig-eitriges Infiltrat, am Rande überall von einem Saum Oedem umgeben, das wie gewöhnliches Milzbrandödem aussah. Die Leber war blutreich, ebenso die weiche, stark vergrößerte Milz. Im Oedem fanden sich sehr wenige, im Infiltrate reichliche Zellen, in beiden tierische Bazillen und Fäden, ebenso in Leber und Milz, während sie im Herzblut nur spärlich zu sehen waren. Agarplatten aus Infiltrat lieferten weit überwiegend Kolonien der Form β, neben vereinzelten α; im Oedem überwiegend α neben wenig β, in Milz überwiegend β, daneben zahlreich α, im Herzblut ungefähr gleichviel α und β. Ueberimpfung von je 3 Kolonien von α und β aus allen 4 Körperteilen über Serum auf Agarplatten ergaben aus allen α-Kolonien wieder nur rein und ausschließlich α, ebenso blieb β unverändert rein.

In der ersten Versuchsreihe hatte sich also bei Einspritzung von β die β-Form im Tierkörper rein erhalten und dabei unverkennbar zwar nicht die volle Infektiosität des Augangsstammes angenommen, aber doch an Infektionskraft gewonnen, Die α-Form aber hatte, zeitlich genau bestimmbar, die β-Form im Tiere abgespalten, und zwar so, daß diese an der Impfstelle nahezu herrschend wurde, während in den Teilen des nach langer Frist gestorbenen Tieres beide Formen zu finden waren und dann bei weiteren Ueberimpfungen rein weiterzüchteten.

Meerschweinchen 11 erhielt 0,5 ccm Serumzucht der α-Form der III. Serumfolge unter die Haut der Leiste (s. das entsprechende Tier No. 12 mit β).

Nach 24 Stunden ganz geringe Schwellung; ergibt grautrübe Flüssigkeit mit Drüsenzellen und Leukocyten; Bazillen weder gesehen, noch auf Agarplatte erhalten.

Nach 48 Stunden starke Drüse mit deutlichem Infiltrat der Umgebung, Leukocyten, auf keine Weise auffindbare Bazillen.

Nach 72 Stunden starke Drüse und Infiltrat, weißtrübe Flüssigkeit mit Drüsenzellen, polynukleären Leukocyten und sehr spärlichen, aber rein tierischen, kurzen Fäden mit mächtig entwickelten Kapseln. Die Agarplatte lieferte 68 Kolonien der reinsten α-Form. Nur 2 Kolonien waren zwar auch klein, aber weniger dicht und glatt: die Weiterzüchtung ergab jedoch, daß es sich auch bei ihnen um die α-Form handelte.

Nach 96 Stunden wie früher; blutigtrübe Flüssigkeit mit sehr viel Drüsenzellen und Leukocyten, dabei in mäßiger Zahl tierische Bazillen mit mehr oder minder gut entwickelter Kapsel. Die auf der Agarplatte aufgegangenen Kolonien (etwa 100) erwiesen sich bei der Besichtigung und 8 bei Weiterzüchtung als rein α.

Das Tier starb nach 108—119 Stunden, deutlich abgemagert. Von der Leiste bis zum Unterbauche fand sich blutiges Infiltrat mit wenig Oedem der Umgebung; Leber dunkel, Milz groß, weich, dunkel. Im Infiltrate, Oedem und der Drüse fanden sich nur spärlich abgeblaßte tierische Bazillen, in Leber und Milz waren Bazillen zahlreich, aber nicht übermäßig, meist dicker als normal, aber mit sehr wenig entwickelten Kapseln. In der Milz fiel der Befund von langen, untereinander verschlungenen Fäden auf. Im Herzblute nur spärlich dicke Bazillen ohne deutliche Kapsel. Von den angelegten Plattenzuchten wies die aus Oedem in der Umgebung des Infiltrates angelegte etwa 1000 Kolonien auf, die alle den Typus β hatten, die aus Leber etwa 700, alle von unzweifelhaftem α-Typus. Auf den Platten aus Milz und Herzblut waren sicher fast nur α-Kolonien zu sehen, doch wurden je 4 anscheinend abweichende (weniger dichte Zeichnung) weiter verfolgt und erwiesen sich dann, ebenso wie die von vornherein als α-Form aus der Leber, der Milz und dem Herzblut abgeimpften, durch 2 Zuchtfolgen über Serum als reine und rein weiterzüchtende α-Formen. Die aus Oedem gewonnene β-Form züchtete in 4 weiter verfolgten Kolonien als β rein weiter.

Dieses Tier war somit der Infektion mit dem α-Typus verhältnismäßig rasch erlegen, hatte aber ebenfalls die β-Form zur Abspaltung gebracht. Sie entwickelte sich nur im Oedem um das Infiltrat der Impfstelle, welches leider diesmal nicht selbst untersucht worden war. Im ganzen übrigen Körper hatte nur α zur Entwickelung kommen können, allerdings in einer für Milzbrand verhältnismäßig spärlichen Menge. Es kann daher der Tod bei Impfung mit dem Stamme C oder der α-Form desselben nicht auf das Entstehen der β-Form zurückgeführt werden, welcher eine höhere Infektiosität zukommt.

Was den Befund von Bakterien an der Impfstelle und die daselbst beobachteten Krankheitserscheinungen betrifft, so muß hervorgehoben werden, daß niemals die so bezeichnende Bildung des teigig-weichen, zellarmen Oedems zu beobachten war; stets kam es zur Ausbildung von Eiterung, bei welcher das Auftreten von Phagocytose ein regelmäßiger Befund war. Auch traten zwar die Bazillen hier in tierischer Form auf, erlangten aber trotzdem nie die siegreiche, unaufhaltsame Entwickelung, die für infektiösen Milzbrand damit immer verbunden ist. Die Kapselbildung allein kann somit nicht schon Ursache der Infektiosität sein; auch ein zur Kapselbildung noch befähigter Milzbrand kann alle Eigentümlichkeiten der Abschwächung darbieten. So unzweifelhaft auch ein Zusammenhang zwischen Kapselbildungsvermögen und Infektiosität nachweisbar ist, darf er doch nicht in dem Sinne aufgefaßt werden, als ob die eigenartige Plasmaveränderung, welche uns als Kapselbildung erscheint, die Infektiosität, d. h. die vollständige Ueberwindung der Körperschutzkräfte, unmittelbar erklären könnte, wie dies ähnlich Preisz anzunehmen geneigt ist. Die Ausbildung der Kapsel ist vielmehr nur eine Erscheinungsform der Infektiosität des Milzbrandes, nicht aber ihre wesentliche Ursache. Beides geht auf eine gemeinsame, aber tiefer liegende, bisher unbekannte Eigenschaft des Bacillus zurück.

Das bestätigten sogleich die weiteren Untersuchungen mit den beiden aus dem ursprünglichen Stamme C zur Abspaltung gelangten Formen.

Zunächst seien die Impfergebnisse bei 2 Meerschweinchen erwähnt, welche mit den beiden gleichen Formen geimpft wurden, die auch zur Infektion der Tiere 9 und 11, bzw. 10 und 12 gedient hatten, aber erst dann, als die beiden Formen α und β in 6 aufeinander folgenden Zuchtfolgen auf Serum und Agarplatte auf ihre Reinheit und Beständigkeit geprüft worden waren.

Meerschweinchen 22 erhielt 0,5 ccm einer Serumzucht der gleichen α-Form wie Meerschweinchen 9 und 11, welche inzwischen je 6 Generationen auf Serum und ebenso viele auf Agar durchgemacht hatte, unter die Haut der Leiste.

Nach 24 Stunden mäßige Geschwulst in der Leiste; ergibt klare Flüssigkeit mit zahlreichen Leukocyten ohne sichtbare Bazillen, die aber in der Zahl von 8 Kolonien reinsten α-Typus auf der Platte aufgingen.

Nach 48 und 72 Stunden vergrößerte Drüse mit Infiltrat. Bei der Entnahme wurden Drüsenzellen und Leukocyten, aber keine Bazillen gefunden, die sich auch durch Züchtung nicht nachweisen ließen.

Die Drüsenschwellung wurde größer mit Infiltratbildung in der Umgebung, die Entnahme (meist aus der Drüse selbst) ergab aber nach 96 und 120 Stunden weder sicht- noch züchtbaren Milzbrand. Erst nach 144 Stunden wurden neben Drüsenzellen an zwei Stellen Schatten von tierischem Milzbrand gesehen und auf der Platte etwa 50 kleine Kolonien des Typus α erhalten. Nach 168 Stunden war die Entnahme wieder ergebnislos, nach 192 Stunden ergab die Züchtung aus der angestochenen Drüse wieder etwa 40 reine α-Kolonien.

Das Tier starb nach etwa 204 Stunden. Es fand sich etwas blutig-eitriges Infiltrat nur in unmittelbarer Umgebung der stark vergrößerten Leistendrüse, sonst daselbst keine Reaktion.

Die Leber und die vergrößerte Milz waren blutreich, dunkel. Im Infiltrate fanden sich neben sehr vielen Leukocyten spärliche, unzweifelhaft tierische, aber nur schwach bekapselte Bazillen. Das Gleiche war im Drüsensafte der Fall. In der Milz waren tierische Bazillen zahlreich, und es fanden sich oft lange, untereinander verflochtene Fäden aus kurzen, dicken Bazillen mit deutlicher, aber wenig mächtiger Kapsel. Die Leber bot einen ähnlichen Befund bei geringerer Bazillenzahl. Im Herzblute waren mäßig zahlreich kurze Fäden aus fast quadratischen Bazillen mit schwacher Kapsel zu finden.

Die Plattenzüchtung ergab im Infiltrate überwiegend die α-Form, neben vereinzelten, ganz charakteristischen β-Kolonien, die sich bei der nächsten Zucht als solche erhielten. In der Milz und im Herzblute überwog die α-Form weitaus, doch fanden sich daneben auch β, was durch eine weitere Plattenzüchtung bestätigt wurde.

Es braucht nur darauf hingewiesen zu werden, wie sehr der Verlauf der Impfung von der mit einem infektiösen Milzbrand abweicht.

Nicht nur der Befund an der Impfstelle, sondern auch der von langen, verflochtenen Fäden in der Milz erinnert ganz an das Ergebnis, das man als bezeichnend für Impfung mit Vaccins an empfindlichen oder Impfung mit infektiösem Milzbrand an natürlich immunen Tieren beschrieben hat. Dennoch hat im Tiere Kapselbildung stattgefunden.

Die teilweise Zerlegung der α-Form, mit der das Tier geimpft war, in die β-Form hatte auch hier stattgefunden, wenn sie auch nicht während des Lebens des Tieres nachgewiesen werden konnte.

Noch interessanter war der Versuch der Tierimpfung mit β, nachdem dieses 6 Zuchtfolgen auf Serum und ebenso viele auf Agar durchgemacht hatte.

Meerschweinchen 23 erhielt 0,5 ccm einer Serumzucht der gleichen β-Form wie Meerschweinchen 10 und 12, welche inzwischen je 6 Generationen auf Serum und ebenso viele auf Agar durchgemacht hatte, unter die Haut der Leiste.

Nach 24 Stunden weiche Schwellung von der Leiste bis zum Unterbauche, ergibt klare Flüssigkeit mit wenigen Leukocyten; Bazillen auf keine Weise nachweisbar.

Nach 48 Stunden nur vergrößerte Drüse, aus welcher sich sehr trübe Flüssigkeit mit Drüsenzellen und sehr spärlichen und kaum gefärbten, sonst aber offenbar tierischen Bazillen entnehmen läßt. Auf Agarplatte wurden 47 Kolonien reinster β-Form erhalten. Nach 72 Stunden stark vergrößerte Drüse mit Infiltrat der Umgebung. In der entnommenen Flüssigkeit Drüsenzellen mit einer geringen Zahl tierischer Bazillen mit mächtig entwickelter Kapsel. Plattenzucht ergibt etwa 400 Kolonien reinster β-Form.

Nach 96 Stunden ist das Infiltrat vergrößert; in der entnommenen trüben Flüssigkeit lassen sich bei zahlreichen Leukocyten mit nicht seltener Phagocytose leicht freie Bazillen nachweisen, die der Form nach sicher tierisch sind, aber nur schwach ausgeprägte Kapseln haben. Die Plattenzüchtung ergibt überraschenderweise nur 3 Kolonien, rein β.

Nach 120 Stunden ist das Infiltrat viel kleiner; Entnahme aus der großen Drüse ergibt Leukocyten und wenige, ausgesprochen tierische Bazillen, wohl aber oft „Schatten“ von solchen, auch Phagocytose solcher. Die Platte liefert nur β-Kolonien.

Drei weitere Entnahmen aus der groß bleibenden Drüse nach 144, 168 und 192 Stunden ergaben nur bei der letzten Entnahme Reste von sicher tierischen Bazillen, öfter in Phagocytose. Auf Platten gingen weder aus dieser Entnahme, noch aus den früheren Milzbrandkolonien auf. Das Tier überlebte.

Wie oben bemerkt wurde, schien einiges dafür zu sprechen, daß nach dem Impfergebnis der Tiere 10 und 12 die β-Form eine Rückkehr des Stammes C zur infektiösen Ausgangsform bedeute, wobei diese Rückkehr einfach auf der Abspaltung einiger infektiös gewordenen Individuen beruhen würde. Das Mißtrauen, das von vornherein dieser Deutung entgegengebracht wurde, erweist sich nunmehr als voll berechtigt. Denn lediglich die Weiterzüchtung außerhalb des Tierkörpers durch 12 Folgen, von denen dazu die Hälfte in Serum stattfand, hatte hingereicht, um den Schein von Infektiosität der β-Form derart zu vernichten, daß das geimpfte Tier nicht nur überlebte, sondern auch an der Impfstelle nur ganz geringe Erscheinungen aufwies[1]). Dabei aber ließ sich gerade hier nach 72 Stunden die Ausbildung mächtiger Kapseln nachweisen, die aber in keiner Weise ausreichte, um die Bazillen vor den Körperschutzkräften zu sichern. Der Untergang derselben konnte von Tag zu Tag mikroskopisch beurteilt werden.

Es besteht allerdings gegenüber diesem Versuche der Einwand, daß die Zuchtfolgen immer nur eine ausgewählte Kolonie betrafen, daß also immer nur ein Individuum jeder Folge zur weiteren Entwickelung kam. Es wäre möglich, daß dabei gerade unglücklicherweise eine Kolonie aus einem noch abgeschwächten Bacillus entstanden wäre, während die anderen, vielleicht infektiöseren, nicht beachtet wurden.

---

[1]) Die Drüsenvergrößerung ist hier, wie auch bei anderen ähnlichen Tieren, natürlich nur vorsichtig zu beurteilen, da durch die wiederholte Entnahme aus der Drüse deren Reizung erfolgt sein mußte. — Es muß auch darauf hingewiesen werden, daß die Entnahme von Flüssigkeit aus der Impfstelle mitunter schwierig war und wiederholt werden mußte, um Material zu liefern. Sekundäre Infektionen wurden nie beobachtet, die gelegentlich nach der Entnahme aufgehenden fremden Kolonien bestanden stets aus harmlosen, weißen Kokken.

Es kamen weiter die in den Meerschweinchen 9 und 11 nach Impfung mit der α-Form abgespaltenen beiden Formen zur Untersuchung im Tierkörper.

Meerschweinchen 17 erhielt den Satz von 5 ccm Serumzucht, die aus einer, dem Infiltrat von Meerschweinchen 9, 96 Stunden nach der Impfung, entstammenden α-Kolonie herangewachsen war, unter die Haut der Leiste.

Nach 16 Stunden deutliches, ziemlich derbes Oedem in der Leiste. Trübe Flüssigkeit mit wenig Leukocyten und Bazillen; diese erscheinen dick, gut gefärbt, aber ohne deutliche Kapsel. Die auf der Platte aufgehenden 13 Kolonien gehören sämtlich dem Typus α an.

Nach 40 Stunden reicht die von der Leiste ausgehende, derbe Schwellung etwas auf den Unterbauch hinauf; sie ergibt trübe Flüssigkeit mit zahlreichen Leukocyten, mikroskopisch ohne Bazillen; auf der Platte wurden etwa 50 Kolonien, alle von reinster α-Form, gewonnen.

Nach 64 Stunden ergibt die dem unveränderten Infiltrate entnommene trübe Flüssigkeit viele Leukocyten und spärliche Bazillen, unzweifelhaft tierisch, aber mit schwach ausgeprägter Kapsel. An einer Stelle wurde eine Phagocytose beobachtet, bei der mehrere Zellen einen langen, gewundenen Faden umschlossen. Die auf der Platte aufgehenden 120 Kolonien gehörten, bis auf eine, der α-Form an. Diese war klein, wie die α-Kolonien, aber von sehr lockerer Bauart und behielt diese Eigentümlichkeiten, die wahrscheinlich auf das Entstehen einer neuen Spielart hinweisen, bei 2 weiteren Zuchtfolgen bei.

Nach 88 Stunden ergab die Entnahme aus dem derben, haselnußgroßen Infiltrate zahlreiche Leukocyten, die hier und da Phagocytose kurzer, sicher tierischer Fäden zeigten. Freie Bazillen waren nicht zu finden, die Agarplatte ergab kein Wachstum. Nach 112 Stunden fanden sich, bei unverändertem Außenbefunde, zahlreiche Leukocyten mit nicht seltener Phagocytose und ziemlich zahlreiche, freie Bazillen, meist tierisch, ohne deutliche Kapsel, aber auch als kurze Fäden mit ungewöhnlich stark entwickelter Kapselbildung. Die Platte lieferte 60 Kolonien von schönster α-Form.

Nach 136 Stunden der gleiche Befund; die 140 aufgehenden Kolonien gehören alle der α-Form an.

Das Tier starb nach langem Todeskampfe (vollständige Schlaffheit, von öfteren Krämpfen unterbrochen) nach etwa 142 Stunden. Stark vergrößerte Leistendrüse, mit mäßigem, blutig-eitrigem Infiltrate umgeben, ohne Oedembildung. Milz stark vergrößert, weich, ebenso wie die Leber, blutreich, fast schwarz. Im Infiltrate fanden sich, neben massenhaften Leukocyten, mäßig zahlreiche Milzbrandbazillen, sämtlich tierisch, aber mit verschieden starker Kapselbildung. In Milz, Leber und Herzblut waren die überall tierischen, mehr oder minder stark bekapselten Bazillen zahlreich.

Die angelegten Plattenzuchten lieferten aus Infiltrat etwa 1800, aus Herzblut etwa 1900, aus Leber und Milz 3000 und 5000 Kolonien, die ohne Ausnahme rein den Charakter der α-Form hatten.

In jeder Hinsicht bietet der Versuch den Verlauf einer Impfung mit abgeschwächtem Milzbrand dar, woraus zu schließen ist, daß, trotz des Aufenthaltes, den der α-Stamm im Körper des Meerschweinchens 9 durchgemacht hatte, eine Rückkehr der früheren Infektiosität nicht eingetreten war. Derselbe erfolgte auch im Körper dieses Tieres 17 nicht. Denn eine Serumzucht von einer Kolonie aus dem Herzblute tötete bei Unterhautimpfung ein frisches Meerschweinchen No. 25 mit 0,4 ccm überhaupt nicht und rief, außer Drüsenschwellung und vorübergehender Infiltratbildung, keine Krankheit hervor; Entnahmen waren nicht gemacht worden. Der einmal eingetretene Abschwächungszustand, der dabei nur mit einem teilweisen Verluste der Kapselbildung einhergeht, wird somit erblich und dauernd festgehalten, und der Aufenthalt im Tierkörper, selbst wenn er zum Tode des Impflings führt, ist kein Mittel, um die verlorene Infektiosität wieder entstehen zu lassen.

Im Gegensatz zu den früheren Versuchen, wurde diesmal weder während des Lebens, noch nach dem Tode des Tieres das Auftreten der β-Form, also die Aufspaltung des α-Stammes, beobachtet.

Die in Meerschweinchen 9 zur Entwickelung gelangte β-Form vermochte bei gleicher Impfart, die bei Meerschweinchen 17 für α angewendet worden war, ein Meerschweinchen nicht mehr zu töten.

Meerschweinchen 18, geimpft wie Meerschweinchen 17, mit der aus Meerschweinchen 9 abgespaltenen β-Form. Nach 16 Stunden starkes Oedem, hoch am Bauche hinaufreichend; klare Flüssigkeit, wenig Zellen, sehr spärliche Bazillen mit sehr großen Kapseln bei schlecht gefärbten Innenteilen. Die Agarplatte lieferte keine Milzbrandkolonien.

Nach 40 Stunden ergab das unveränderte Oedem neben wenig Leukocyten weder sicht- noch züchtbaren Milzbrand.

Nach 64 Stunden war das Oedem sehr derb geworden und lieferte bei der Entnahme trübe Flüssigkeit mit sehr vielen Leukocyten. Tierische Bazillen, oft in Fäden, waren ohne Mühe zu finden. Die auf der Platte aufgehenden 71 Kolonien zeigten alle Merkmale von β.

Nach 88 Stunden waren, bei sonst gleichem Befunde, die tierischen Bazillen viel spärlicher geworden und oft schattenhaft gefärbt. Nach 112 Stunden schien das Tier krank; das derbe Oedem hatte sich merklich verbreitet, die entnommene Flüssigkeit war fast klar und enthielt neben wenigen Zellen zahlreiche tierische, gut bekapselte Bazillen. Die auf der Platte aufgehenden 400 Kolonien gehörten ohne Ausnahme zu β.

Nach 136 Stunden war der Befund wesentlich derselbe, nur die Zahl der Bazillen, von denen nur 10 Kolonien auf der Platte (nur β) gewonnen wurden, war stark vermindert.

Nach 160 Stunden wurden aus dem derben Oedem keine Bazillen mehr erhalten. Solche fanden sich auch bei den späteren Entnahmen, die bis zu 230 Stunden fortgesetzt wurden, nicht mehr vor. Das derbe Oedem verschwand, Drüsenschwellung bestand noch lange; das Tier überlebte.

Es scheint hier, als ob der β-Milzbrand nach einer langen Frist, nach etwa 64 Stunden, einen Anlauf zur Infektiosität genommen hätte, den er nach einer neuerlichen Pause nach etwa 112 Stunden erneuert hätte. Aber die Körperkräfte blieben dann endgültig siegreich, obwohl das Aussehen der an der Impfstelle unzweifelhaft gewachsenen Bazillen sich von dem infektiöser Bazillen in nichts unterschied. Die während des Lebens aus dem Tiere gewonnenen Kolonien behielten nicht nur die Form von β bei, sondern zeigten auch in Serum das gewohnte Verhalten der Bildung zahlreicher tierischer Bildungen.

Meerschweinchenimpfungen mit den beiden aus Meerschweinchen 11 erhaltenen Milzbrandformen hatten folgendes Ergebnis:

Meerschweinchen 20 erhielt 0,5 ccm Serumzucht aus einer α-Kolonie, die auf der mit Leber angelegten Platte gewachsen war, unter die Haut der Leiste.

Nach 24 Stunden Schwellung mit strangförmigem Oedem; trübe Flüssigkeit mit wenigen Leukocyten, Milzbrand auf keine Weise nachweisbar.

Nach 48 Stunden Infiltrat um die Leistendrüse; blutige Flüssigkeit mit vielen Leukocyten und mühelos zu findenden Bazillen, alle tierisch, aber mit nur wenig entwickelter Kapsel.

Das Tier starb in der folgenden Nacht; die Bauchhöhle war mit zum großen Teile geronnenem Blute erfüllt, das offenbar einer Verletzung entstammt, deren Sitz aber nicht aufgefunden werden konnte. Um die geschwollene Leistendrüse blutig-eitriges Infiltrat. Milz deutlich vergrößert, weich. Im Infiltrat waren, neben vielen Zellen, Bazillen, wie bei der letzten Entnahme, ohne Mühe zu finden. Im Bauchhöhleninhalte fanden sich spärlich kurze Ketten von dicken, fast quadratischen, aber kapsellosen Bazillen. In Milz und Leber waren ebensolche zahlreich, im Herzblute spärlich zu finden. — Die aus Peritonealblut, Milz und Herzblut aufgegangenen Kolonien gehörten sämtlich der α-Form an. Hingegen wuchsen aus dem Infiltrat der Impfstelle etwa 300 scharf ausgeprägte, reine α-Kolonien und dazwischen überall etwa 40, durch ihre Größe sofort auffallende β-Kolonien. Sowohl die von α, als die von β züchteten in 2 Serum- und Agarfolgen rein weiter.

Meerschweinchen 21 erhielt 0,5 ccm Serumzucht aus einer β-Kolonie, die auf der mit Oedem von Meerschweinchen 11 angelegten Platte gewachsen war, unter die Haut der Leiste.

Nach 24 Stunden Oedem in der Leiste; gibt trübe Flüssigkeit mit zahlreichen Leukocyten, die nicht selten Phagocytose kapselfreier Bazillen zeigen, und freien Bazillen, alle tierisch, mit mehr oder minder gut entwickelter Kapsel, oft blaß gefärbt. Die auf Agar aufgehenden 80 Kolonien sind alle von reinster β-Form.

Nach 48 Stunden starkes, derbes Oedem, bis zur Mitte des Bauches reichend; mikroskopisch kein Befund; auf der Platte 7 Kolonien, sämtlich β.

Nach 72 Stunden derbe Schwellung am ganzen Unterbauch, Leukocyten, sehr selten Milzbrand ohne Kapsel; Platte steril.

Nach 96 Stunden schienen die örtlichen Erscheinungen stärker; die Entnahme ergab nur sehr wenige tierische, aber fast gar nicht gefärbte Bazillen, von denen nur 1 β-Kolonie zu gewinnen war.

Nach 120 Stunden war das derbe Oedem wesentlich nur auf die Umgebung der Drüse beschränkt, ergab stark blutige Flüssigkeit mit Leukocyten und Drüsenzellen, mikroskopisch ohne Milzbrand, auf der Platte 1 Kolonie von β.

Nach 144 Stunden lieferte die vom Infiltrat umgebene, sehr stark geschwollene Drüse wieder zahlreiche, typisch tierische Bazillen, die Platte etwa 250 Kolonien von β.

Nach 168 und 192 Stunden wurden keine Bazillen erhalten.

Das Tier starb abgemagert nach etwa 210 Stunden. Um die stark vergrößerten Leistendrüsen fand sich blutig-eitriges Infiltrat mit etwas Oedem. Milz groß, weich, ebenso wie die Leber blutreich. Im Infiltrat waren viele Leukocyten in vollem Zerfall, Bazillen sehr spärlich, teils ausgesprochen tierisch, teils zu ganz dünnen, nackten Fäden zusammengeschmolzen. In der Milz fanden sich spärliche, aber ausgesprochen tierische, bekapselte Formen; die gleichen waren etwas zahlreicher in der Leber, im Herzblute wieder nur selten. Die Platten lieferten von überallher Kolonien, die sich als β erwiesen.

Von den letzten beiden Tieren ist der Tod von Meerschweinchen 20 sicher durch einen Unfall herbeigeführt, mindestens beschleunigt worden. Im übrigen läßt der ganze Verlauf die Abschwächung des Milzbrandes, der mit Kapseln im Tiere auftrat, zweifellos erkennen und bestätigt die an den früheren Versuchen gemachten Ermittlungen vollständig.

Die Spaltungen, welche der Stamm C im Verlaufe der Versuche mit einer gewissen Regelmäßigkeit im Tierkörper erfahren hatte, ließen es als wünschenswert erscheinen, diese Versuche zu wiederholen. Merkwürdigerweise stellten sich dabei, bei reichlichster Bazillenzufuhr, Mißerfolge ein, indem die geimpften Tiere am Leben blieben.

Meerschweinchen 7 erhielt 1 Oese junger Agarzucht von C in 1,5 ccm NaCl-Lösung unter die Haut der Leiste.

Nach 8 Stunden hatte sich deutliche, teigige Schwellung entwickelt, bei deren Entnahme wenige rote und weiße Blutkörperchen, aber keine Bazillen gefunden wurden; auf der Platte gingen aber einige Kolonien auf, die durchaus den Typus zeigten und in Serum überwiegend Kulturformen mit nicht seltenen tierischen Bildungen, also ganz wie dies bei Stamm C gewöhnlich ist, entwickelten.

Nach 24 Stunden war die Leistendrüse geschwollen, um sie herum etwas Oedem, sicher gegen die erste Entnahme verkleinert. Entnahme ergab Drüsenzellen und Leukocyten, keinen sichtbaren Milzbrand, von dem auch auf der Platte nur eine Kolonie aufging. Nach 48 Stunden nur Drüse mit etwas umgebendem Infiltrat. Die Entnahme ergab Drüsenzellen und Leukocyten mit seltener Phagocytose von kapsellosen Bazillenschatten. Auf der Platte wurden nur 3 Kolonien gefunden, die sich wie C verhielten.

In der Folge blieb die Drüse mit umschließendem Infiltrat noch einige Tage bestehen, Bazillen wurden aber auf keine Weise mehr nachgewiesen; das Tier überlebte.

Meerschweinchen 14 erhielt den Satz von 5 ccm Serumzucht von C in NaCl-Lösung unter die Haut der Leiste.

Nach 24 Stunden mäßiges, derbes, strangförmiges Oedem; in der entnommenen Flüssigkeit fanden sich viele Leukocyten, öfters mit Phagocytose kapselloser Bazillen, die auch frei, in sehr geringer Zahl und oft zu Schatten geworden, vorkamen. Auf der Platte ging eine größere Zahl von Kolonien auf, die in jeder Hinsicht sich wie C verhielten.

In der Folge wurden Bazillen (7 Tage lang verfolgt) nicht mehr gefunden, die örtlichen Erscheinungen blieben auf Drüsenvergrößerung mit etwas Infiltratbildung der Umgebung beschränkt.

Ohne Zweifel bleibt das Versagen der beiden Impfungen, die doch mit verhältnismäßig ungeheuren Bazillenmengen ausgeführt worden waren, auffallend, besonders, wenn man bedenkt, daß Meerschweinchen 2 der Einspritzung von nur 1 ccm Rinderserumkultur erlegen war. Konnte bei Meerschweinchen 7 angenommen werden, daß Agarbazillen, also kapsellose, sich im Tiere nicht weiter zu halten vermögen, so wurden dafür bei Meerschweinchen 14 bekapselte Bazillen, wie sie sich im Serum außerhalb des Tierkörpers bilden, in großer Zahl miteingeführt, mußten aber ebenfalls im Meerschweinchen nach höchstens 48 Stunden vernichtet worden sein. Es hat ganz den Anschein, als ob der Impferfolg mit dem Stamme C bei Meerschweinchen 2 wesentlich auf die Miteinführung des Serums zurückzuführen sei, in welchem die Milzbrandbazillen gewachsen waren, sei es nun, daß als begünstigend lediglich das Serum als solches in Betracht kommt, sei es, daß sich während des Bazillenwachstums im Serum besondere Angriffstoffe gebildet haben, die die Ansiedlung der Bakterien im Tiere begünstigen.

Wie dem auch sei, jedenfalls führte erst wieder die Einspritzung einer Serumzucht zu erfolgreicher Impfung.

Meerschweinchen 24 erhielt 0,75 ccm Serumzucht des Stammes C unter die Haut der Leiste.

Nach 24 Stunden geringe Schwellung und Oedembildung um die Leistendrüse. Entnahme ergab Drüsenzellen und Leukocyten, Bazillen mikroskopisch nicht, auf der Platte nur in 2 Kolonien gefunden, welche den ausgesprochensten Typus der α-Form trugen. Diese muß sich also schon innerhalb 24 Stunden im Tiere herangebildet haben, da die mit dem Impfmaterial angelegte und mit etwa 1000 Kolonien besetzte Platte nichts von α-Kolonien erkennen ließ.

Nach 48 Stunden: Drüsenschwellung mit strangförmigem, zum Unterbauche ziehendem, derbem Oedem. Das kleine Tröpfchen trüber Flüssigkeit, das sich entnehmen ließ, lieferte auf der Platte 3 Milzbrandkolonien vom Aussehen der C-Kolonien.

Nach 72 Stunden derbes Infiltrat um Drüse und am Unterbauch; trübrote Flüssigkeit mit Leukocyten, Bazillen nur durch Züchtung in der Zahl von etwa 70 Kolonien der Form C erhalten.

Nach 96 Stunden: Oertliche Erscheinungen zurückgegangen, Bazillen nicht nachweisbar.

Nach 120 Stunden wesentlich nur stark geschwollene Drüse mit Infiltrat der nächsten Umgebung. Mikroskopisch bei sehr vielen Leukocyten 3 stark gefärbte, tierische Bazillen gefunden. Platte steril.

Nach 144 Stunden ist das Infiltrat wieder bis zum Unterbauche vergrößert und ergibt rottrübe Flüssigkeit mit vielen Leukocyten, deren Phagocytose an 2 Stellen beobachtet wurde. Zahlreiche, ausgesprochene tierische Bazillen mit riesigen Kapseln. Auf der Platte gingen etwa 300 Kolonien, die alle die ursprüngliche Form von C zeigten, nur manchmal kleiner waren, an.

Nach 168 Stunden, bei wesentlich gleichem Befunde, sind die ohne Zweifel tierischen Bazillen häufig, aber meist in vollem Zerfall. Die Platte ergab nur etwa 25 Kolonien, die größtenteils den Typus zeigten.

Das Tier starb nach etwa 192 Stunden, stark abgemagert. Die sehr geschwollene Leistendrüse von blutig-eitrigem Infiltrate umgeben, das bis zum Mittelbauche reicht. Unterhalb der Drüse etwas Oedem, Milz groß, weich, blutreich, ebenso die Leber. Im Infiltrate sehr viele, zum Teil zerfallene, Leukocyten ohne Phagocytose. Freie tierische Bazillen zahlreich, aber fast durchaus zerfallen und schlecht gefärbt, ebenso im Oedem. In der Milz und ähnlich in der Leber finden sich Milzbrandbazillen in Menge, meist als mittellange, tierische Fäden, deren Kapsel aber nur schwach entwickelt ist; daneben finden sich auch längere Fäden von ganz nackten Bazillen. Im Herzblute sind die Bazillen ausgesprochen tierisch, aber nicht sehr zahlreich.

Die mit Infiltrat und Oedem angelegten Agarplatten ergaben überall in der Mehrzahl große Kolonien vom Aussehen der C- oder der β-Kolonien, daneben aber auch solche, an deren Zugehörigkeit zu der Form α nicht zu zweifeln war. Im Herzblut fanden sich die beiden Formen sogar in ungefähr der gleichen Zahl.

Die Spaltung des Stammes C in eine der ursprünglichen gleichende Form (β) und eine davon sehr abweichende α-Form scheint somit im Tierkörper sehr häufig, vielleicht ganz regelmäßig einzutreten. Das Ergebnis der Versuche in infektionstheoretischer Hinsicht ist bereits oben hervorgehoben worden. Es besteht darin, daß die Kapselbildung, die ein Milzbrandbacillus im lebenden Tierkörper durchmacht, allein noch nicht die Infektiosität zu bedingen und zu erklären vermag. Der Stamm C, wie auch seine abgeleiteten Formen α und β, traten zeitweise an der Impfstelle mit durchgehender Kapselbildung auf, ohne daß deshalb eine unbegrenzte Vermehrung mit dem Bilde des typischen Meerschweinchenmilzbrandes eingetreten wäre. Es besteht daher zwar ein inniger Zusammenhang zwischen Kapselbildung und Infektiosität, aber der Bacillus ist nicht deswegen, weil er Kapseln bilden kann, auch schon infektiös.

Weiter ist das Ergebnis von Bedeutung, daß der durch Abschwächung bei höherer Temperatur erlangte Zustand eines Milzbrandstammes erblich ungemein festgehalten wird, und daß es nicht gelingt, den Stamm wieder voll infektiös zu machen, selbst wenn er bei Tierimpfung unter besonderen Bedingungen noch zu töten und das Tier septikämisch zu durchwuchern vermag. Die noch vielfach zu findende Behauptung, daß abgeschwächter Milzbrand, wenn er einmal zum Haften im Tierkörper gebracht werden kann, seine frühere Infektiosität zurückerhält, muß als widerlegt gelten. Das kann für ganz bestimmte Abschwächungsstufen eintreten, niemals aber allgemein zutreffen.

Für das unveränderliche Festhalten des einmal durch Abschwächung erlangten Zustandes lieferten Versuche mit den anderen Stämmen A, D, E den besten Beweis.

Sie sollen nur in Kürze Erwähnung finden. Der seiner Kapselbildung vollständig beraubte, in Serum nicht mehr in langen Fäden wachsende Stamm A erzeugte bei Einspritzung von 1 ccm Serumzucht bei Meerschweinchen ein Oedem, das nach 8 Stunden deutlich, nach 24 Stunden zurückgegangen, nach 48 Stunden bis auf ein kleines Infiltrat verschwunden war und in dem sich durch Züchtung entnommener Proben nie Bazillen nachweisen ließen.

Meerschweinchen 6, mit einer Oese Agarkultur von A unter die Haut geimpft, zeigte nach 8 Stunden teigiges Oedem, das innerhalb 48 Stunden unter Zurückbleiben von Drüsenschwellung verschwand. Bazillen ließen sich von der Impfstelle nach 8, 24 und 48 Stunden herauszüchten, behielten aber ihre Kapsellosigkeit bei Serumzüchtung neben den sonstigen Eigenschaften bei. Bei der mikroskopischen Untersuchung von Präparaten der Impfstelle fanden sich nach 24 Stunden Bazillen zahlreich vor, ohne Kapsel, meist nur ganz schwach gefärbt.

Ein mit dem Satze von 5 ccm Serumzucht von A geimpftes Meerschweinchen 16 zeigte nur nach 24 Stunden bei Entnahme von der Impfstelle einige ganz blasse Milzbrandstäbchen, die auf der Platte nicht mehr aufgingen.

Der Stamm D erzeugte bei Meerschweinchen 3 nach Impfung mit 1 ccm Rinderserumzucht gute Oedembildung, die aber nach 48 Stunden zurückging und keinen nachweisbaren Milzbrandbefund mehr ergab. Das gleiche Ergebnis hatte die Impfung von Meerschweinchen 19 mit dem Satze von 5 ccm Serumzucht, wobei durch Zucht niemals Bazillen erhalten wurden, während durch mikroskopische Beobachtungen nach 24 und 48 Stunden Phagocytose kapselloser Stäbchen festgestellt werden konnte.

Mit dem Stamme E waren schon früher Meerschweinchenversuche angestellt worden (dieses Centralbl. Abt. I Orig. Bd. 76. S. 337). Ein jetzt mit 1 ccm Rinderserumzucht geimpftes Meerschweinchen 4 zeigte Bildung von Oedem, das nach 24 Stunden sich von der Leiste bis zum Unterbauche ausdehnte, nach 48 Stunden zu einem strangförmigen Infiltrate zusammenschrumpfte, um dann zu vergehen; Bazillen wurden mikroskopisch nur 2mal, nach 24 und 48 Stunden, in Phagocytose gesehen, gezüchtet nach 48 Stunden, wobei die erhaltenen 5 Kolonien, auf Serum übertragen, sämmtlich ihre seltenste Kapselbildung bei Bildung sehr langer, oft verschlungener Fäden beibehalten hatten.

Nach Impfung mit 1 Oese Agarzucht E zeigte Meerschweinchen 8 nur sehr wenig Oedembildung und Drüsenschwellung in der Leiste. Bazillen wurden nur bei der Entnahme nach 24 Stunden, teilweise in Phagocytose, teils frei, ohne Kapseln, meist in Zerfall gesehen. Züchten ließen sie sich nach 8, 24 und 48 Stunden, später nicht mehr. Die erhaltenen Kolonien wuchsen bei der Uebertragung in Serum stets als lange, verschlungene Fäden mit seltenster Kapselbildung.

Länger nachweisbar und züchtbar war der Stamm E aus Meerschweinchen 15, der mit dem Satze von 5 ccm Serumzucht unter die Haut der Leiste geimpft wurde. Es bildete sich nach 24 und 48 Stunden ein sehr ansehnliches Oedem aus, das nach 72 Stunden verhärtete und als sehr derbes, strangförmiges Infiltrat bis zum 7. Tage

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

bestand, worauf es sich unter Zurücklassung von Drüsenschwellung rückbildete. Milzbrandbazillen wurden durch Agarzucht in den ersten 3 Tagen nicht aufgefunden. Am 4. Tage wurden 6, am 7. 1, am 8. wieder 1 Kolonie gefunden, stets bei der Uebertragung auf Serum mit dem gewohnten Befunde der Bildung langer, kapselloser Ketten mit sehr seltenen tierischen Gliedern.

Nach diesen Ergebnissen besteht das Recht, den einmal ausgebildeten Abschwächungszustand eines durch Einzelauslese erhaltenen Milzbrandstammes als eine erworbene und durch Vererbung dann unverändert und bisher auch, namentlich durch Tierimpfung, unveränderlich erhaltene Eigenschaft anzusehen.

Nicht geringe Schwierigkeiten bereitet die Erklärung der Vererbung der eigentümlichen Kapselbildung, welche bei Stämmen wie E und C zu beobachten ist. Geht die Kapselbildung einmal ganz verloren, wie bei A und D, dann ist ohne weiteres zu verstehen, daß die Nachkommen wieder ganz kapselfrei wachsen. Von Interesse ist nur, daß auch anscheinend nebensächliche Merkmale, wie die Bildung langer Fäden bei D und nur kurzer Fäden und Einzelstäbchen bei A, so unverändert erhalten bleiben. Jedoch die Kapselbildung, welche der Stamm E und auch C aufweisen, ist schwer zu erklären. Man kann wohl ganz ungezwungen annehmen, daß Kapselbildung nur auf einen Reiz hin zum Ausdrucke kommt, den einerseits der lebende Tierkörper, andererseits jedes Tierserum auf den Milzbrandbacillus ausübt. Bei Einsaat einer geringen Zahl von Bazillen muß der Reiz auf alle der gleiche sein, und tatsächlich bekapseln sich ja nahezu alle Stäbchen eines infektiösen Milzbrandes, solange das Serum nicht durch das Wachstum selbst erschöpft zu werden beginnt. Bei den abgeschwächten Formen, wie C oder besonders E, ist es im höchsten Grade auffallend, daß von den vielen Hunderten von Einzelstäbchen, welche sich an der Zusammensetzung eines verschlungenen Knäuels langer Fäden beteiligen, nur ein einziges oder einige wenige eine, dann meist sehr mächtige, Kapsel ausbilden, sehr oft mitten im Verlaufe eines Fadens, dessen benachbarte Glieder dauernd nackt bleiben, obwohl sie alle aus der Teilung eines Elternstäbchens hervorgegangen sein müssen, also unmittelbare Geschwister sind.

Die Beständigkeit dieses Verhaltens bei Weiterzüchtung gibt dann noch mehr zu denken. Zwar ist der naheliegende Versuch, zur weiteren Aufklärung eine Serumzucht von E derart zur Fortpflanzung zu bringen, daß kapsellose und bekapselte Stäbchen Einzelkolonien bilden, wegen der Seltenheit der Letzteren, von vornherein zur Aussichtslosigkeit verurteilt; aber es unterliegt keinem Zweifel, daß, eben wegen dieser Seltenheit, die größte Mehrzahl der auf einem Plattenausstrich aufgegangenen Kolonien von kapsellosen Fäden oder Stäbchen ausgegangen sein muß, und doch haben diese, im Laufe der Zeit zu Hunderten auf Serum übertragen, immer nur die beschränkte Kapselbildung weitervererbt. Der mögliche Einwand, daß bei solchen Ausstrichen jede Kolonie aus einem Faden, nicht aus einer Einzelzelle, hervorgegangen sei, wird einerseits durch die große Zahl der Untersuchungen in seiner Bedeutung erschüttert, andererseits durch die Tatsache widerlegt, daß auch die aus der Impfstelle von Meerschweinchen gezüchteten Kolonien, die fast immer nur aus nackten Einzelstäbchen oder ganz kurzen Fäden hervorgehen, sich ebenso verhalten. Für den Stamm C mit seiner ungleich häufigeren Kapselbildung gelten ähnliche Erwägungen. Hier müssen bei der Abimpfung einer größeren Zahl von Kolonien eines Serumausstriches Nachkömmlinge sowohl nackter als bekapselter Stäbchen in frisches Serum gelangen, aber alle diese Serumzuchten verhielten sich gleich.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Bei diesem Stamme kommt aber überdies in Betracht, daß er gelegentlich in vielen Kolonien aus dem Tiere zu einer Zeit gezüchtet werden konnte, wo das mikroskopische Präparat ausschließlich mächtig ausgebildete Kapselstäbchen enthielt, wo also die Forderung der isolierten Züchtung solcher erfüllt sein mußte; und doch zeigte sich auch hier keine Abweichung von dem gewöhnlichen Verhalten in Serum.

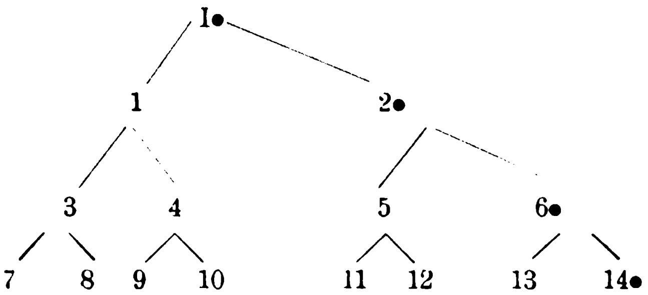
Eine einfache Ueberlegung zeigt, daß bei den abgeschwächten Stämmen dieser Art ganz besondere Vererbungsverhältnisse bestehen müssen und daß der Abschwächungsvorgang gerade diese hervorruft und damit das ganze Verhalten erklärt.

Man kann sich vorstellen, daß die Fähigkeit zur Kapselbildung auf einer besonderen Substanz des Bacillus, kurz als A bezeichnet, beruht. Wo diese in entsprechender Menge vorhanden ist, bildet sich die Kapsel aus, sobald der Reiz dazu für diese, sonst nicht in Erscheinung tretende (latent bleibende), dann aber mächtig anschwellende Substanz gegeben wird. Natürlich kann man ebenso als Grundlage für die Kapselbildung eine Fähigkeit, z. B. des Exoplasmas, annehmen, sich auf den Reiz hin in besonderer Form umzuwandeln, wie dies ähnlich in der Exoplasmatheorie von Eisenberg zum Ausdrucke kommt. Hier handelt es sich nur darum, eine möglichst anschauliche Vorstellung zu gewinnen. Der Substanz (oder der Potenz) A entspricht, ganz allgemein ausgedrückt, eine Erbmasse a, welche normalerweise gleichmäßig auf die Nachkommen eines Einzelstäbchens übergeht.

Wendet man ein Abschwächungsverfahren, z. B. das der Züchtung bei 42° in Bouillon, an, so wirkt die Schädigung auf die latente A-Substanz und deren Erbmasse a ein, die dadurch bei einfachster Vorstellungsweise vermindert wird.

Dabei sei hier auf die bereits früher (dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 76. S. 331 ff.) beschriebene Tatsache aufmerksam gemacht, daß Serumzuchten, welche bei 42° gehalten werden, nur sehr schwer und verspätet abgeschwächte Bazillen ergeben, ein Hinweis darauf, daß die angenommene A-Substanz während der Latenz einer Schädigung viel eher zugänglich ist, als im ausgebildeten Zustande.

Die Verminderung der Erbsubstanz a macht sich dadurch kenntlich, daß die Nachkommen eines bei 42° veränderten Bacillus dieselbe nicht mehr gleichmäßig, sondern ganz ungleichmäßig mitgeteilt erhalten, daß dann also ein Nachkomme die Erbmasse nur in so beschränktem Grade besitzt, daß er nicht genug A-Substanz erzeugt, um sie bei Eintritt des entsprechenden Reizes als Kapsel hervortreten zu lassen. Der andere Nachkomme besäße zwar für sich genug Erbmasse zur Ausbildung von A, die Störung in der gleichmäßigen Verteilung der Erbmasse überträgt sich aber auch auf seine Nachkommen, von denen wieder nur einer genügend a mitbekommt usf.



Zur Veranschaulichung möge obiges, grob entworfene Schema dienen. Der Bacillus I sei als Elter der Abschwächung unterworfen worden, wodurch die ungleichmäßige Verteilung der durch ein beigesetztes ● angedeuteten Erbmasse a bedingt wird. Diese trete im äußersten Falle jetzt ganz in den Nachkommen 2 über. Wenn sich nun die beiden Nachkommen gleichmäßig vermehren, so wird schon in der 3 Vermehrungsfolge der Zustand eintreten, daß von 14 Bazillen nur 3 imstande sind, in Serum Kapseln zu bilden, und je weiter die Vermehrung schreitet, um so ungünstiger wird das Verhältnis der kapselbildenden zu nackten Bakterien werden. Ist dann gar die Vermehrung der nackten Stäbchen eine stärkere, so kann die Zahl der mit A ausgestatteten Bazillen tatsächlich eine verschwindende sein, wie dies für den Stamm E zutrifft.

Das Schema erklärt sehr gut das nur gelegentliche Auftreten von Kapseln bei abgeschwächtem Milzbrand und ebenso, daß bekapselte Stäbchen desselben dennoch in der Nachkommenschaft wesentlich nur nackte Stäbchen hervorbringen. Weniger klar wird, daß auch die Nachkommen nackter Stäbchen wieder mit der Fähigkeit gelegentlicher Kapselbildung ausgestattet sind. Das gilt aber nur für den oben angenommenen, extremen Fall, daß die ganze Erbmasse nur auf einen Nachkommen überginge und der andere gar nichts davon erhielte. In Wirklichkeit dürfte es sich nicht um ein Fehlen oder Vorhandensein, sondern nur um das Vorhandensein von mehr oder weniger Erbmasse handeln. Auch ist diese ja nicht als ein gleichbleibendes und ins Unendliche teilbares Etwas aufzufassen, sondern man muß annehmen, daß sie sich, einem Nachkommen einmal zugeteilt, in diesem vermehrt, allerdings ohne Aenderung ihrer Eigenschaften.

Es sei wieder unter grobsinnlicher Annahme ein ebensolches Schema entworfen. Gesetzt, es wäre im normalen Milzbrande die Erbmasse $^{16}/_{16}$, und es erfolge gleichmäßige Verteilung auf die beiden Nachkommen, so erhält jeder $^{8}/_{16}$, die aber während des Lebens des Bacillus sich bei gleichbleibender Qualität wieder verdoppeln, ohne das Maximum von $^{16}/_{16}$ überschreiten zu können. Dann wird die Vermehrung so aussehen:

$\mathrm{I} = {}^{16}/_{16}$

$1 = {}^{8}/_{16}$ wächst zu $^{16}/_{16}$ $2 = {}^{8}/_{16}$ wächst zu $^{16}/_{16}$

$\underbrace{^{8}/_{16}-{}^{16}/_{16}}$ $\underbrace{^{8}/_{16}-{}^{16}/_{16}}$

Alle Nachkommen werden die volle Kapselbildung haben und ihrerseits wieder voll vererben.

Nun trete durch Abschwächung die ungleiche Verteilung der Erbmasse ein, z. B.

$\mathrm{I} = {}^{16}/_{16}$

$1 = {}^{4}/_{16}-{}^{8}/_{16}$ $2 = {}^{12}/_{16}-{}^{16}/_{16}$

$3 = {}^{2}/_{16}-{}^{4}/_{16}$ $4 = {}^{6}/_{16}-{}^{12}/_{16}$

$9 = {}^{4}/_{16}-{}^{8}/_{16}$ $10 = {}^{8}/_{16}-{}^{16}/_{16}$ usf.

Man sieht sofort, daß bei dieser Art der Vererbung jeder Nachkomme schließlich die Fähigkeit haben wird, einmal bekapselte Individuen hervorzubringen, da mit der Ausbildung von $^{16}/_{16}$ die Kapselsubstanz A in genügender Menge hervorgebracht wird. Es ist auch verständlich, daß durch solche Deduktionen mannigfaltige Verhältnisse dem Verständnisse näher gebracht werden könnten. Würde z. B. die ungleichmäßige Verteilung der Erbmasse $^{16}/_{16}$ im Verhältnisse $1 = {}^{15}/_{16}-{}^{16}/_{16}$ und $2 = {}^{1}/_{16}-{}^{2}/_{16}$ erfolgen, so würden die Nachkommen von 2 niemals mehr zur Kapselbildung gelangen können, wie dies für die Stämme A und D zutrifft; gleichwohl wäre noch eine Wiedererlangung der früheren Fähigkeit möglich, wenn es gelänge, einen solchen Bacillus dazu zu bringen, daß die mit $^1/_{16}$ auf ihn entfallende Erbmasse in ihm zu mehr als nur $^2/_{16}$ wird.

Doch würde eine weitere Ausführung dieses nur als Vorstellungsbehelf gedachten Schemas wenig mehr Wert als den einer Spielerei haben.

Auf diese Weise läßt sich eine ungefähre Vorstellung über das sonst schwer erklärbare Vorkommen von Stämmen wie C und E gewinnen; es ist bei ihnen nicht nur der physiologische Zustand der Individuen, sondern auch der Vererbungsmechanismus gestört, zwei Dinge übrigens, die bei ungeschlechtlicher Vermehrung ohnedies eng verbunden sein müssen.

Für den Stamm C kommt überdies noch die Auffindung einer eigentümlichen Spaltung in Betracht, indem er, und zwar bisher nur im Tierkörper, daselbst aber offenbar häufig, sich in die neue Form α und die Form β teilt, welch letztere mit dem ursprünglichen Stamme C übereinstimmt, bei 2 Tieren anscheinend etwas mehr infektiös geworden war, aber sonst sich im Tierversuche als stark abgeschwächt erwies. Sie hat bisher sich sowohl bei der Züchtung außerhalb, als auch beim Versuche innerhalb des Tierkörpers als beständig erwiesen, wodurch sie sich vom Stamme C unterscheidet, der leicht die a-Form aus sich entstehen läßt.

Die durch eine Reihe von Merkmalen gekennzeichnete α-Form ist zwar bei der Zucht außerhalb des Tierkörpers unverändert geblieben, in diesem aber hat sie regelmäßig die β-Form abgespalten; dabei besitzt sie eine, im Vergleich zu Milzbrand zwar sehr verminderte, aber zweifellose Infektiosität.

Es wird von großem Interesse sein, die Beziehung der äußerlich nicht zu unterscheidenden β-Formen, je nach ihrer Abstammung durch Spaltung aus C und durch Abspaltung aus der α-Form, genauer zu untersuchen.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen zur Entwickelung von Dibothriocephalus latus L.

I. Ueber negative Versuche, junge Forellen, Hechte und Barsche direkt mit Flimmerembryonen zu infizieren.

[Aus dem Institut d'Hygiène expérimentale et de Parasitologie, Lausanne (Direktor Prof. Dr. Br. Galli-Valerio), und aus dem Etablissement de Pisciculture de l'État de Neuchâtel (Boudry).]

Von Dr. **Constantin Janicki,** Chexbres (Vaud).

Einleitendes.

Auf die Geschichte des hier berührten Problems kann an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden. Es seien nur kurz erwähnt die vergeblichen Bestrebungen von Rud. Leuckart und Schauinsland, Fische direkt zu infizieren (Bachforellen, Hechte resp. Quappen), Carl Vogts resultatlose Versuche mit verschiedenen niederen Tieren, Max Brauns kritische Untersuchungen des Problems auf Grund seiner umfassenden Erfahrung in der Bothriocephalus-Frage und schließlich, aus der neuesten Zeit, mehrfache negative Versuche Galli-Valerios an Goldfischen.

Einen Aufenthalt in der Westschweiz habe ich beschlossen für das Studium der Frage nach dem Infektionsmodus der Fische mit D. latus auszunützen. In der Absicht, zu jeder Zeit über genügende Mengen von Flimmerembryonen verfügen zu können, faßte ich den Plan, Kulturen von Dibothriocephalus-Eiern aus menschlichen Exkrementen anzulegen. Als Versuchsobjekte kamen nur junge, und zwar sicher plerocercoidfreie Fische in Betracht. Diese beiden Momente haben die Orientierung meiner Untersuchungen bestimmt. Ein ungehindertes Arbeiten mit großen Mengen frischer menschlicher Faeces machte einen Anschluß an ein medizinisches Institut nötig. Durch freundliches Entgegenkommen des Herrn Prof. Br. Galli-Valerio habe ich im Institut d'Hygiène expérimentale et de Parasitologie in Lausanne Aufnahme gefunden. Dank den Empfehlungen des Herrn Prof. O. Fuhrmann in Neuchâtel stellte mir Herr Maurice Vouga, Inspecteur général de la pêche du Canton de Neuchâtel, in liberaler Weise die staatliche Fischzuchtanstalt in Boudry (Neuchâtel) zur Verfügung. Die aus der Teilung der Arbeit zwischen zwei Anstalten sich ergebende Notwendigkeit des vielen Reisens war reichlich durch den Umstand aufgewogen, daß ich an beiden Orten, je nach der Richtung der Arbeit, die denkbar besten Bedingungen vorgefunden habe. Ich erfülle die angenehme Pflicht, den genannten Herren für ihr Interesse an meinen Untersuchungen meinen verbindlichsten Dank auszusprechen[1]. — Einen erfahrenen, zu jeder Zeit hilfsbereiten Berater fand ich in Herrn Henri Jaques, pisciculteur, Boudry; ihm auch an dieser Stelle herzlichen Dank.

I. Kulturen von Flimmerembryonen.

Nach allerlei einleitenden Untersuchungen über die Verbreitung des D. latus unter den Uferbewohnern des Léman, wobei mir Herr Dr. med. Paul Narbel in Lausanne in sehr dankenswerter Weise behilflich gewesen war, bin ich in Beziehung gekommen zu einem Bothriocephalus-Träger, der gewillt war, mir jederzeit gewünschte Mengen von Faeces zu liefern. Es handelte sich um einen 60-jährigen, kräftigen Mann aus der Umgebung von Lausanne, der seit seiner Kindheit stets in der Nähe des Sees gewohnt hatte und der seit Jahren die Fischerei als Nebenberuf mit Leidenschaft betreibt. Nach eigener Aussage ist Pat. seit seinem 14. Jahre, wo er angeblich mit anderen jungen Leuten um die Wette Fische in rohem Zustande verzehrte, mit D. latus dauernd infiziert; offenbar liegt eine mehrfache Infektion vor. Irgendwie nennenswerte Verdauungsbeschwerden will Pat. nicht verspürt haben; Appetit ist vorzüglich, das Aussehen blühend. Auf eine von mir, nach Abschluß meiner Kulturen, vorgeschlagene Abtreibungskur will Pat. nicht eingehen.

Die zwischen dem 10. und 16. April 1916 abgelegten Faeces, von vorwiegend dünnflüssiger Beschaffenheit, werden in einem verschlossenen Behälter gesammelt und verbleiben ca. 8 Tage in diesem dichtgedrängten

---

[1] Bei den umfassenden Vorbereitungen zu den ausgeführten Experimenten habe ich mannigfacher Anregung und Unterstützung, die mir von seiten der Herren: Prof. B. Grassi (Rom), Prof. Fr. Zchokke (Basel) und Dr. G. Surbeck, eidgenössischer Fischereiinspektor (Bern), zuteil geworden ist, hier dankbar zu gedenken.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Zustande im Laboratorium. Darauf werden sie in mehreren offenen Behältern (Salatieren), mit Gaze zugebunden, vor den Fenstern aufbewahrt. Am 3. Mai beginnt die Prozedur der Eiergewinnung.

Die von mir angewandte Methode der Eiergewinnung besteht in sukzessiven Waschungen der Faeces, und gründet sich auf das hohe spezifische Gewicht der stark dotterhaltigen Eier gegenüber den übrigen Bestandteilen der Exkremente. So einfach die Methode auch ist, empfiehlt sich doch ihre Schilderung, da ich mich selbst im Laufe meiner Untersuchungen von der besonderen Zweckmäßigkeit des einen oder des anderen technischen Griffes überzeugt habe.

Es ist ratsam, vor Beginn der Waschungen die Faeces in der angegebenen Weise ca. 4—8 Tage in verdünntem Zustande aufzubewahren. Durch eine leichte Quellung der Bestandteile wird die Gesamtmasse der Faeces weniger schmierig und konsistent; die Eier lösen sich reiner ab. Das eigentliche Auswaschen wird in einer Reihe von Porzellan- (resp. Fayence-)Tellern von ca. 20 cm Durchmesser vorgenommen; auf jeden Teller verwende ich ca. 100 ccm verdünnter Faeces (bei Gebrauch von größeren Mengen ist der Schlußertrag an Eiern infolge des gesteigerten Verlustes beim Waschen doch nicht größer!). Der Teller wird mit Wasser gefüllt und der Inhalt stark durchgerührt, die kompakteren Massen werden mit einem größeren Skalpell sorgfältig und nicht zu stark zerrieben. Nach ca. 15—20 Minuten wird das Wasser dekantiert; bei Verwendung von etwa 12 Tellern arbeitet man kontinuierlich ohne Zeitverlust. Diese Prozedur der Dekantierung wird etwa 6 Mal wiederholt. Nun ist der Inhalt bereits klarer geworden, indem leicht flottierende Bestandteile entfernt worden sind. Darauf führe ich die Teller samt Bodensatz und dem darüber befindlichen Wasser in eine größere, mit Wasser gefüllte Emailschüssel ein (ca. 32 cm Durchmesser); bei einiger Vorsicht geschieht das, ohne den Bodensatz erheblich in Bewegung zu bringen. Jetzt lassen sich diejenigen gröberen Partikeln, welche infolge eines beträchtlichen spezifischen Gewichtes in den vorausgegangenen Waschungen nicht entfernt worden sind, leicht, unter Verwendung von 2 größeren Skalpellen, aufwirbeln und über den Rand des Tellers in das Wasser der Schüssel hinüberjagen, wo sie zu Boden fallen. Nötigenfalls wird diese Reinigung in Emailschüsseln zweimal durchgeführt. Nach Ablaufenlassen des Wassers besteht der Bodensatz vorwiegend aus Eiern von D. latus; ich war überrascht über die Quantitäten von Eiern, die man auf diese Weise gewinnt. Der Teller wird nun unter die Wasserleitung gebracht und einem exzentrischen, schwachen Wasserstrahl ca. 10 Minuten lang ausgesetzt, welche Prozedur bei geeigneter Anordnung keiner Beaufsichtigung bedarf, indem das Wasser ruhig über den Rand des Tellers abfließt, ohne den Inhalt mitzureißen. Die Eierkultur ist auf diese Weise fertig.

Die Zucht der Eier geschieht am zweckmäßigsten in offenen Petri-Schalen; als Wasser habe ich Seewasser von Ouchy verwendet, später mit gleichem Erfolge Leitungswasser vom Lac de Bret (eau de Bret). Das Wasser wurde zunächst täglich, später alle 2 Tage gewechselt; namentlich war ich darauf bedacht, das irisierende Oberflächenhäutchen, das den Luftzutritt hindert, zu entfernen. Das Zugießen neuen Wassers geschieht am besten in einem kräftigen Strahl, unter Durcheinandermengung des Inhalts, wodurch die Entwickelung von Pilzen hintangehalten wird. Aus gleicher Rücksicht soll man nicht viel Bodensatz in jede Schale tun und auch für dessen homogene Verteilung sorgen.

Die ersten Kulturen wurden am 3. Mai angelegt. Am 17. Mai konnte in der Mehrzahl der Eier ein deutlicher Embryo mit Häkchen beobachtet werden. Am 21. Mai — somit am 19. Tage seit der Isolierung der Eier aus den Fäkalmassen — sind die ersten Flimmerembryonen ausgeschlüpft. Jeder folgende Tag brachte neue Embryonen. Die Flimmerembryonenproduktion hält 14 Tage bis 3 Wochen, manchmal auch länger an, und erreicht in dieser Zeit einmal ein Maximum. Indem ich nun in derselben Weise über Kulturen vom 4., 5., 8., 9., 10., 15., 16., 17. und 18. Mai verfügte, war ich seit dem genannten 21. Mai stets im Besitz von sehr großen Mengen von Flimmerlarven aus dem oben erwähnten Material.

Eine zweite Serie von Kulturen stammte aus den Faeces desselben Patienten, die in der Zeit vom 16.—25. Mai abgelegt worden waren. Von diesem Material habe ich Anfang Juni, Ende Juni und Anfang Juli Schalenkulturen angelegt, und verfügte fast ununterbrochen über enorme Mengen von Flimmerembryonen bis in den Anfang des August.

Die Hauptbedingungen für die Entwickelung von Flimmerembryonen sind genügende Verdünnung der Faeces, Luftzutritt und Temperatur. Die beiden erstgenannten Bedingungen sind wahrscheinlich miteinander identisch; es ist allerdings nicht ausgeschlossen, daß Zersetzungsprodukte während der Entwickelungsarbeit des Eies nach außen diffundieren, so daß die Verdünnung der umgebenden Lösung eine Bedingung an sich darstellt. Alle 3 Bedingungen waren in dem geschilderten Verfahren realisiert. Mehrmals glaubte ich, mich überzeugen zu können, daß Petri-Schalen, in denen nur sehr wenig Wasser enthalten war, eine raschere Produktion von Embryonen lieferten, als solche mit bis an den Rand reichendem Wasser. Im allgemeinen empfiehlt es sich, da die Embryonen mit Vorliebe am äußersten Rande der Schale, wo der Wassermeniskus an Luft und Glas angrenzt, sich aufhalten, die Schalen nur zu $^3/_4$ Höhe zu füllen und zur Zeit der beginnenden Embryonenproduktion durch Nachgießen des Wassers dafür zu sorgen, daß die Embryonen am Schalenrand nicht etwa austrocknen. Eine umfangreiche feuchte Kammer, welche indessen ausgiebigen Luftzutritt ermöglichen soll, leistet in dieser Hinsicht gute Dienste.

Bezüglich der Temperatur habe ich zu bemerken, daß ich die Kulturen stets bei Zimmertemperatur, ohne Anwendung von Thermostaten, gehalten habe. Ins einzelne gehende Beobachtungen über den Einfluß des Unterschiedes zwischen der Frühjahrs- und Sommertemperatur habe ich nicht angestellt. Im Monat Dezember 1916, anläßlich der Vorbereitung von Kulturen zu Demonstrationszwecken, habe ich feststellen können, daß in einem, Tag und Nacht gleichmäßig auf 16° C durchwärmten Zimmer die in der Nähe des Heizkörpers aufgestellten Kulturen bereits am 13. Tage die ersten Flimmerlarven zeigten (vom 9. bis zum 21. Dez.). Daraus ersehe ich, daß Anwendung von Temperaturen von 30 resp. 33° (Leuckart, Schauinsland) durchaus überflüssig ist. Dieser Beschleunigung der Entwickelung unter dem Einfluß künstlich erhöhter Temperatur gegenüber habe ich nach einer mündlichen Mitteilung von Herrn Dr. F. Rosen in Neuchâtel eine sehr beträchtliche Retardation in der Entwickelung von Kulturen zu verzeichnen, welche seit Ende Oktober im Freien gehalten worden waren; nach 2 Monaten war noch keine Entwickelung zu konstatieren. Indem ich auch im Monat Januar reichlich über Flimmerembryonenv erfüge, glaube ich, daß unter Laboratoriumsbedingungen zu jeder Zeit Flimmerembryonen sich erzielen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

lassen. In der freien Natur wird, es nach dem eben Gesagten, wohl anders sein.

Ueber eine Verunreinigung der Kulturen durch Bakterien bis zu einem störenden Grade habe ich mich niemals zu beklagen gehabt. Hingegen hatte ich gelegentlich gegen starke Entwickelung von ciliaten Infusorien anzukämpfen, welche zwar die Eier selbst anscheinend nicht beeinträchtigen, aber immerhin die Arbeit und die Uebersicht stören. Ich war immer imstande gewesen, diese Infusorienfauna zu entfernen, indem ich den Inhalt der Petri-Schalen in 12 cm hohe Erlenmayer-Kölbchen verteilte und mit Wasser bis an den äußersten Rand des Halses füllte. Nach 24—48 Stunden sammelt sich im und am Halse des Kölbchens eine überaus reiche Infusorienmenge, die mit Leichtigkeit entfernt wird. Namentlich nach einem nochmaligen Auswaschen des Bodensatzes unter der Wasserleitung (s. oben) gelang es mir immer, die Kulturen vollständig oder doch nahezu vollständig von Infusorien zu befreien. — Sehr lästig kann die Entfaltung einer Fadenalgenflora in den Petri-Schalen werden, weil in diesem Falle das Einsammeln der Flimmerembryonen in dem Maße ihrer Entstehung, sei es mit der Pipette, sei es — bei massenhafter Produktion von Larven — durch ein sorgfältiges Abgießen des Wassers unter Belassung des Bodensatzes, unangenehm erschwert wird. Bei Installation von Kulturen in einem nach Norden gelegenen Zimmer (Institut d'Hygiène) habe ich mit dieser Schwierigkeit niemals zu kämpfen gehabt. Direktes Sonnenlicht ist also für die Kulturen zu vermeiden.

Ergibt sich etwa die Notwendigkeit, die Entwickelung der Kulturen zu retardieren resp. vollständig auf eine Zeitlang zu unterbrechen, so bediente ich mich wieder mit vollem Erfolg der genannten Erlenmayer-Kölbchen, wobei ich in diesem Falle dafür sorgte, daß der Bodensatz eine Dicke von ca. 2—2$^1/_2$ cm erreichte; mit Wasser werden die Kölbchen wiederum bis an den äußersten Rand des Halses gefüllt. Eine derartige Unterbrechung der Entwickelung war für mich gelegentlich notwendig in Anbetracht der Transporte des Infektionsmaterials von Lausanne nach Boudry. Flimmerembryonen lassen sich nicht ohne Risiko auf einer Reise von 3—4 Stunden transportieren, wohl hingegen das eben herangereifte Kulturenmaterial. Nach einiger Uebung hat man es in der Hand, den Beginn der Produktion von Flimmerembryonen bis auf 1—2 Tage genau nach Wunsch zu bestimmen.

Die Flimmerembryonen erweisen sich in ausgesprochenem Maße positiv aërotaktisch und negativ heliotaktisch. Die erstgenannte Reaktion stellt sich in kleinen Behältern, wie Uhrschalen etc., sehr rasch ein, indem die Embryonen sich sämtlich an der äußersten Peripherie des Wassers ansammeln. Dasselbe gilt, wie schon gesagt, für die Kulturen in Petri-Schalen. Allerdings habe ich öfters, unter noch nicht näher präzisierten Bedingungen, ganze Scharen von lebenskräftigen Flimmerembryonen in mittleren und tieferen Schichten der Petri-Schale flottieren sehen. Möglich, daß das Drängen an die äußerste Oberfläche auch mit einer gewissen Anpassung der Flimmerlarve an den hydrostatischen Druck der tieferen Schichten der Litoralzone zusammenhängt, der zwar nicht bedeutend ist, aber immerhin anders ausfällt, als in einer kleinen Uhrschale. Diese Verhältnisse genauer zu verfolgen, habe ich zurzeit noch keine Gelegenheit gehabt. — Die negative Einstellung in bezug auf das Licht erfolgt relativ langsam, aber ausnahmslos. Infolge der negativen Heliotaxis glaube ich annehmen zu müssen,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

daß die Flimmerembryonen im Litoral nicht an der Oberfläche des Sees schwimmen, sondern eine tiefere Zone aufsuchen; bei der in der Regel wohl guten Durchlüftung des Litorals (infolge des Pflanzenwuchses) dürfte ein solches Verhalten mit der positiven Aërotaxis nicht im Gegensatz stehen. Ferner ist in diesem Sinne das bezüglich des hydrostatischen Druckes Vermutete zu berücksichtigen.

Mehr als 8 Tage habe ich die Flimmerembryonen nicht am Leben beobachtet. In den Petri-Schalenkulturen bleiben die Larven sicher mehrere Tage lang lebend. In kleinen Behältern, wie Uhrschalen, isoliert, fallen sie schon nach 24 Stunden zu Boden; die Flimmerbewegung ist eingestellt, die meisten Embryonen haben die Hüllen verlassen, einzelne sind noch von der inneren Membran umgeben; Häkchenbewegungen werden alsdann nicht beobachtet. Allem Anschein nach sind die Embryonen in diesem Zustande tot oder dem Absterben nahe. Im Gegensatz zu der von Leuckart ausgesprochenen Vermutung, neige ich somit zur Annahme, daß das geschilderte Auskriechen der Onkosphären aus den Hüllen im freien Zustand ein degenerativer Vorgang ist, und daß die Infektion des in Betracht kommenden Wirtes im Zustande des vollen Flimmerkleides geschieht.

Die dargestellte Kulturmethode von Flimmerembryonen hat die Vorzüge, daß man von den Zufälligkeiten einer Abtreibungskur unabhängig ist, und vor allem, daß man mit einem einzigen Patienten, im günstigen Fall monatelang und länger arbeiten kann. Ueberdies scheint mir gegenüber der Gewinnung von Eiern aus einer abgetriebenen Strobila der Umstand besonders beachtenswert zu sein, daß die Eier in den Faeces nach einer normalen Reifung (nicht im cytologischen Sinne gemeint!) in dem vielverschlungenen Uterus auf natürlichem Wege aus demselben durch die Uterusöffnung ausgestoßen worden sind, und daß die aus den Eiern sich entwickelnden Flimmerlarven demnach wohl mit Recht als mit voller natürlicher Virulenz begabt angesehen werden dürfen.

II. Versuche mit Forellen.

In der Absicht, möglichst natürliche Verhältnisse für die Infektion herzustellen, habe ich sämtliche Versuche mit Fischen in nicht fließendem Seewasser (Lac de Neuchâtel) angestellt. Für die Aquarien mit Forellen ergab sich daraus, in Anbetracht der langen Versuchsdauer, die Notwendigkeit einer ausgiebigen Durchlüftung. Ich fand in einem von der mechanischen Werkstätte E. Weber in Zürich gelieferten Durchlüftungsapparat mit Wasserbetrieb eine sehr geeignete Vorrichtung, welche eine ganze Reihe von Aquarien ausgiebig mit Luft zu speisen vermag[1]). Die vorliegende Versuchsserie umfaßte ein Infektionsaquarium (hexagonal, ca. 15 l fassend), sowie ein etwas kleineres Kontrollaquarium. Diese, wie auch andere, für weitere Versuche verwendete Aquarien wurden in

---

1) Der handliche, mit einem sehr geringen Wasserverbrauch arbeitende Apparat (Mechanische Werkstätte E. Weber, Zürich 7, Forchstraße 130) ist unter 68829 patentamtlich geschützt. Bei stark kalkhaltigem Wasser, wie das in der Leitung von Boudry der Fall war, ist eine leicht auszuführende Reinigung von Zeit zu Zeit nötig. Aus diesem Grunde waren in meiner Versuchsanordnung 2 Apparate gleichzeitig tätig, die Herr Henri Jaques in sinnreicher Weise miteinander verbunden hatte. Vom Mai bis September haben wir uns niemals über das Versagen der Lüftung zu beklagen gehabt. — Den Apparat habe ich kennen gelernt dank der Freundlichkeit des Herrn Prof. H. Strohl in Zürich, in den Installationen des dortigen neuen Zoologischen Instituts der Universität.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

einem viereckigen Wassertrog (ca. 2,30 × 0,60 m) mit stets fließendem Wasser geeignet eingestellt, durch welche Vorrichtung die Aquarien gekühlt wurden. In der Zeit von $2^1/_2$ Monaten wurde das Wasser im Infektionsaquarium 3mal gewechselt, in der Infektionsphase (s. u.) aber überhaupt nicht.

Der Versuch wurde am 26. Mai 1916 installiert. In das Infektionsaquarium wurden eingesetzt:

30	Exemplare	Trutta lacustris (Seeforelle), ca.	2	Monate alt,
22	„	Trutta iridea (Regenbogenforelle),	$1^1/_2$	„ „
20	„	Salmo salvelinus (Saibling).	3	„ „

Total 72 Exemplare

Das etwas kleine Kontrollaquarium wurde mit 15, resp. 10, resp. 10 Stück der betreffenden Fische bevölkert; im ganzen 35 Stück.

Sowohl die Aquarien wie die Fische wurden vor der Installation einem Kaliumpermanganatbad unterzogen, um der Entwickelung von Schmarotzern während des Versuches (Saprolegnia, Costia) vorzubeugen. Das verwendete Seewasser wurde durch einen lockeren Wattetrichter vor dem Gebrauch filtriert und von größeren Planktonorganismen befreit. Als Nahrung wurde während der Infektionsdauer frische, geschabte Ochsen- resp. Kalbsmilz verwendet. Absichtlich wurden während dieser Zeit niedere Tiere (Daphnien, Chironomus etc.) vermieden, um im Fall eines positiven Erfolges über den Weg der Infektion im klaren zu sein. Diese Art der Ernährung hatte bei nichtabfließendem Wasser den Nachteil, daß kleine Ueberreste der Nahrung am Boden nicht vollständig jeweilen mittels Pipette entfernt werden konnten, wodurch ab und zu in der Infektionszeit eine leichte Fäulnis entstand; sie ließ sich aber immer durch Einsetzen einer ausgiebigeren Durchlüftung bemeistern[1].

Die Infektionsphase, d. h. der Zeitraum, in dem Flimmerembryonen in das Aquarium übertragen wurden, dauerte vom 27. Mai bis zum 22. Juni, mithin 27 Tage. Während dieser Periode wurde 8mal, in Abständen von 3 bis 4 Tagen, die Infektion vorgenommen, d. h. mit Flimmerembryonen geschwängertes Wasser in das Aquarium entleert. Einzelne von diesen Infektionen waren ganz außerordentlich ausgiebig. Das Infektionsmaterial wurde stets vor dem Gebrauch als vollauf lebenskräftig konstatiert. Gelegentlich habe ich über solch ungeheure Mengen von Flimmerlarven verfügt, daß ich bei einer ununterbrochenen Arbeitszeit von 4 Stunden mit dem Einsammeln kaum fertig werden konnte (zweimaliges Abgießen von 40—50 Petri-Schalen; unter dem Einfluß der erneuten Wasserfüllung scheint in sehr kurzer Zeit, nachdem unmittelbar vorher sehr viele Embryonen gesammelt, das Ausschlüpfen neuer ausgelöst zu werden).

Mehr als einmal habe ich mich durch Pipettenproben aus verschiedenen Schichten des Infektionsaquariums überzeugt, daß die Flimmerembryonen jeweilen von der zuletzt stattgefundenen Infektion bis zur nächsten überleben. An geeignetem Infektionsmaterial hat es somit in keiner Weise gefehlt.

Abgesehen von Flimmerlarvenzusatz, wurden die Fische im Infektions- und Kontrollaquarium in genau derselben Weise behandelt.

---

[1] In den ersten Wochen seit Installation des Versuches in Boudry war mir Herr Dr. Maurice Weber in Neuchâtel behilflich, wofür ich ihm bestens danke. Herr Dr. Weber war ursprünglich als Mitarbeiter ausersehen, die beruflichen Pflichten haben ihn aber an der weiteren Beteiligung gehindert.

Die Sterblichkeit der Forellen während der Zeit, wo die Ernährung durch Fleisch besorgt wurde, war eine recht beträchtliche. Sie ist entschieden nicht auf die Wirkung der zeitweise in sehr großen Mengen vorhandenen Flimmerlarven zurückzuführen, wie der Vergleich mit dem Kontrollaquarium ohne weiteres belehrte. Annähernd in dem Maße des Absterbens wurde im Infektionsaquarium im Zeitraum vom 27. Mai bis 22. Juni für Ersatz (ausschließlich durch Trutta lacustris aus den Aquarien der Fischzuchtanstalt) gesorgt. Während für den Ersatz 34 Exemplare verwendet wurden, betrug die Zahl der toten Fische 58; im ganzen wurden somit in dem Infektionsaquarium 106 Exemplare gebraucht. — Als Ursache der hohen Sterblichkeit in der genannten Phase des Experiments betrachte ich gelegentliche Intoxikation durch Ueberreste der feingeschabten Milz. Eine gründliche Reinigung des Aquariums mit Wasserwechsel wollte ich aus Rücksicht auf das stets vorhandene Larvenmaterial während der Infektionsphase des Versuches nicht vornehmen lassen. Vor Costia- resp. Saprolegnia-Epidemien sind die Aquarien verschont geblieben. Luftmangel ist in keinem Fall Ursache des Todes gewesen; dank der großen Wachsamkeit und der Geschicklichkeit des Herrn Henri Jaques funktionierte die Lüftungsvorrichtung ununterbrochen, und niemals habe ich die Forellen an der Oberfläche nach Luft schnappen sehen. — Wenn auch die hohe Sterblichkeit den Gesamteindruck des Versuches etwa in wenig vorteilhaftes Licht rücken könnte, so ist demgegenüber zu betonen, daß für die zu entscheidende Frage die angewandten Bedingungen die beste Möglichkeit einer Realisierung geboten hatten; es hatte überdies von vornherein in meiner Absicht gelegen, Fische auch nach einem Aufenthalte von nur wenigen Tagen im Infektionsaquarium zur Beobachtung heranzuziehen.

Die Konservierung geschah durchweg in 4-proz. Formollösung. Abgesehen von den toten Fischen, die möglichst unmittelbar nach dem Tode oder beim Herannahen desselben fixiert wurden, habe ich während der genannten Phase 20 lebendfrische Exemplare dem Infektionsaquarium in verschiedenen Zeitabschnitten zur Untersuchung entnommen.

Am 22. Juni wurde die Infektion unterbrochen. Das Aquarium erleidet ein Kaliumpermanganatbad von der Dauer einer ¼ Stunde. Die Fortsetzung des Versuches geschieht gleichfalls unter Benutzung des Seewassers ohne Abfluß; die Lüftungsvorrichtung wie vorher. Als Nahrung werden von jetzt an Daphnien verwendet aus den ausgiebigen Bassinskulturen der Fischzuchtanstalt.

28 Forellen treten nach Abschluß der Infektionsphase in die Fortsetzung des Versuchs ein. Darunter sind 6 Trutta iridea, mithin vom Anfang des Versuchs stammend, die übrigen sind Trutta lacustris, in bezug auf den Zeitpunkt des Einsetzens gemischter Provenienz. Das Wasser wurde am 8. resp. 25. Juli gewechselt. Unter Verlust von 6 Exemplaren werden am 31. Juli 10 Forellen lebendfrisch konserviert. Von dem Rest überlebten bis zum 20. Oktober 4 Exemplare (3 lacustris, 1 iridea), welche an diesem Tage lebendfrisch konserviert wurden, womit der Versuch seinen Abschluß findet.

Im Kontrollaquarium wurden am 28. Juni die übrigbleibenden 3 Exemplare konserviert und die Kontrollserie aufgegeben, da seit der Einführung der Ernährung durch Daphnien genügend Kontrollmaterial in den Stammaquarien der Anstalt unter annähernd gleichen Bedingungen sich vorfand.

Seit Einführung der Daphnienernährung begann das Wachstum der

Versuchsfische raschere Fortschritte zu machen; immerhin blieben die Tiere auch in der Folge an Größe hinter den gleichaltrigen Fischen der Anstalt zurück.

Von den aus dem Versuch gesammelten Fischen wurden $^3/_4$ einer genauen Untersuchung unterzogen, und zwar in erster Linie der gesamte Darmkanal mit der Leber, Peritonealhäute und Muskulatur, in zweiter Linie Kiemen und Haut. Nach geeigneter Präparation geschah die Beobachtung in stark gepreßtem Zustand, und zwar die Durchsicht mit Zeiß Achromat C, Ok. 2 und 4, die genauere Analyse von Einschlüssen, die in irgendeiner Hinsicht die Aufmerksamkeit verdienten, mit Zeiß Apochrom. Immers. 2 mm, Apert. 1,30, Komp.-Ok. 4, 6 und 8 bei Auerlichtbeleuchtung und Schusterglocke.

Schon gegen Ende Juni, auch durch Versuche aus den anderen Serien darin bekräftigt, begann ich die Ueberzeugung zu gewinnen, daß eine direkte Infektion der in Betracht kommenden Fische nicht stattfindet. Auf alle Einzelheiten der Untersuchung, welche gelegentlich einige Hoffnung auf das Gelingen der Infektion entstehen ließ, kann ich hier nicht eingehen. Ich erwähne unter anderem den Befund von winzigen, 0,030 mm und weniger im Durchmesser zählenden Cysten in der Leibeshöhle und seltner in der Muskulatur bei Sektionen von Trutta lacustris in mehr als einem Falle; die feine Haut der runden Cyste zeigt an einer Stelle einen schwach prominierenden Deckel, der Inhalt ist gleichmäßig granulös; von Häkchen keine Spur. Die Natur dieser winzigen Cysten ist mir nicht bekannt. Die Untersuchung der Kontrollexemplare hatte aber ihre gelegentliche Gegenwart auch bei nichtinfizierten Fischen ergeben. Es ist somit ausgeschlossen, daß es sich um Entwickelungszustände von Oncosphären handelte. — Bei einer am 31. Juli dem Infektionsaquarium lebendfrisch entnommenen Trutta iridea fand ich in der Muskulatur des Rumpfes eine runde Cyste, deren Größe diejenige einer Oncosphaera übertraf; in der Cyste lag, etwa hufeisenförmig gekrümmt, ein wurmartiger Körper; Häkchen nicht feststellbar. Dieser Befund bleibt an sich verdächtig. Wenn ich aber dessen isolierte Stellung gegenüber anderen Versuchsfischen, desgleichen gegenüber den enormen, als Infektionsmaterial verwendeten Larvenmengen berücksichtige, kann ich ihm unmöglich irgendeine positive Bedeutung im Sinne einer normalen Entwickelung zuschreiben. — Bei 2 am 11. Juni unter 9 tot gesammelten Tr. lacustris traf ich im ventralen Teil der Leibeshöhle frei je 1 weißliche Cyste von ca. 2 mm Durchmesser und homogenem, granulösem Inhalt. Diese Befunde sind unter der großen Anzahl von sezierten Fischen durchaus vereinzelt geblieben und daher ohne konklusive Kraft.

Allgemein muß ich schließen: die angetroffenen Befunde wurden bald in Kontrollfischen gleichfalls konstatiert — und einen Kontakt dieser letzteren mit Flimmerembryonen halte ich für absolut ausgeschlossen —, bald erscheinen die Befunde derart vereinzelt gegenüber der gebotenen Infektionsmöglichkeit, daß an einen zwingenden Zusammenhang nicht gedacht werden kann.

III. Versuche mit Hechten.

Während es mir nicht gelungen war, in Boudry selbst Hechte aus künstlicher Aufzucht zu bekommen, erhielt ich Ende Mai 1916 durch gütige Vermittelung des Herrn. Dr. G. Surbeck von Herrn Fischer Hofer in Meggen (Vierwaldstätter See) künstlich aufgezogene, diesjährige

Hechtbrut von ca. 1000 Stück. Die Brut wurde in einem von Quellwasser gespeisten Aquarium unter intensiver Ernährung mit Daphnien in Boudry weitergezüchtet, die Fischchen nahmen rasch an Größe zu. Von dieser Serie habe ich über 2 Versuche zu berichten:

Versuch A. Der Versuch wird am 24. Juni nachmittags in einem 3-Liter-Einmachglas installiert. Die Durchlüftungsvorrichtung wird nicht verwendet; statt dessen grüne Algen aus den Bassins der Anstalt eingesetzt. Das Wasser des kleinen Aquariums kommt fast ausschließlich aus den Petri-Schalen-Kulturen und ist ganz außerordentlich dicht mit Flimmerembryonen durchsetzt; durch Kontrolle mit der Lupe überzeuge ich mich mehrmals, daß die Embryonen in dem ganzen Glase gleichmäßig verteilt sind.

Das Glas beherbergt 20 junge Hechtchen.

Die Fische verhalten sich im ganzen ruhig; unbeweglich in horizontaler Stellung sind sie in verschiedenen Schichten des Aquariums verteilt. Ich habe Gelegenheit, einzelne in der Nähe des Glases befindliche Köpfe genau mit der Lupe zu betrachten. Ich glaube mich nicht zu täuschen, daß, sobald das Fischchen eine oder mehrere Larven in den Rachen bekommt, es dieselben unter einem starken Ruck des ganzen Körpers wieder von sich gibt. Meine anfängliche Befürchtung, die Hechtchen werden unter dem Einfluß der starken Konzentration von Flimmerlarven, von denselben gleichsam überfallen, bald zugrunde gehen, erweist sich als durchaus unbegründet. Die Fische leben munter weiter; am 26. Juni abends werden Daphniden als Nahrung eingesetzt; die Hechtchen fressen intensiv, was sich auch am aufgedunsenen Abdomen verrät. In diesem guten Zustand, täglich neu genährt, verbleiben die Tiere bis zum 4. Juli nachmittags somit 10 Tage lang. Durch ein Versehen werden am 4. Juli viel zu viel Daphnien dargereicht; es entsteht Luftmangel im Aquarium, 16 Fische sind tot, am 8. Juli wird der Versuch unterbrochen. Versuchsdauer 10 resp. 14 Tage.

Versuch B. Unter den gleichen Bedingungen wie im vorigen Versuch werden 1) am 1. Juli 30 Hechtchen einer Infektion unterworfen, 2) am 8. Juli in einem anderen Glas weitere 40 Hechtchen. Die beiden Bestände (30 + 40) werden am 11. Juli in einem Glas von 3 l Inhalt zusammengetan und einer erneuten, außerordentlich starken Infektion unterworfen. Anfänglich sorgen grüne Algen für Luft. Später wird der Durchlüftungsapparat eingesetzt. Ernährung geschieht mit Daphniden. Bis zum 31. Juli gibt es 48 Tote; am 31. Juli wird der Versuch unterbrochen. Maximale Versuchsdauer 30 resp. 22 Tage.

Die Bedeutung der geschilderten Serie (Versuch A und B) erblicke ich, außer in dem Umstand, daß der Hecht in der Natur zu stärkstinfizierten Fischen gehört (speziell in den baltischen Provinzen nach Max Braun), vor allem darin, daß, im Verhältnis zur Kleinheit des Aquariums, ganz außerordentlich große Mengen von Flimmerembryonen Verwendung gefunden haben; es handelte sich beinahe um eine wahre „Suspension“ von Larven im Seewasser. An denkbar ausgiebigstem Kontakt somit zwischen Fisch und Flimmerembryo hatte es in keiner Weise gefehlt. Daß die Flimmerembryonen in die Mundhöhle der Hechtchen gelangen, habe ich, wie gesagt, direkt beobachtet; allerdings scheint es, daß die Fische das winzige Gebilde wieder ausspeien.

Die mit größter Spannung und Sorgfalt vorgenommene Untersuchung hatte mir nur Enttäuschungen eingebracht. Was mich bei der Sektion zunächst sofort frappierte, war das Vorkommen von cystenartigen Ge-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

bilden an den distalen Randpartien der Leber; die Cysten erreichten die Größe bis 0,25 mm und waren in diesem Fall schon mit der Lupe (× 12) als ein weißliches Gebilde gut erkennbar; ihre Anzahl schwankte zwischen 1—4. Bald war der Cystencharakter deutlich ausgesprochen — in einem Fall wurden 4 Inhaltskörper in einer Cyste konstatiert — bald handelte es sich anscheinend um einen massiven, zum Teil wenig regelmäßig begrenzten Körper. Sofort vorgenommene Untersuchung aus dem Stammaquarium der Hechtbrut hatte zu dem Ergebnis geführt, daß die cystenartigen Einschlüsse der Leber bei den jungen Hechtchen sehr verbreitet sind, mithin mit meiner künstlichen Infektion in keinem Zusammenhang stehen. Ihre parasitäre Natur scheint mir sicher zu sein, obwohl ich ihre Artzugehörigkeit nicht kenne (Triaenophorus?), und obwohl das Stammaquarium stets von rasch fließendem Quellwasser gespeist wurde. — Magen und Darmkanal, auf die ich die größten Hoffnungen setzte, haben mir durchaus negative Ergebnisse geliefert. Durchaus isoliert und in keiner Weise beweiskräftig bleibt der Befund einer etwa zitronenförmigen, 0,04 mm im längeren Durchmesser zählenden Cyste in der Magenwand eines jungen Hechtchens.

Derart ist diese Versuchsserie, welche die denkbar günstigsten Bedingungen für eine Infektion geboten hatte, absolut negativ ausgefallen.

Anhangsweise bemerke ich, daß ich mehrfach Gelegenheit gehabt habe, in der vorliegenden Serie, wie in kleineren Versuchen mit Trutta lacustris, festzustellen, daß reife, oncosphärenhaltige Eier von D. latus den Darmkanal unverändert passieren; ein anderer Erfolg war freilich auch nicht zu erwarten, wollte man nicht etwa die alten, längst verlassenen Ideen von Knoch wieder aufnehmen.

Es könnte vielleicht ganz allgemein bezüglich der Serie II und III mir der Vorwurf gemacht werden, die verwendeten Versuchsfische seien zu jung für eine Infektion gewesen. Demgegenüber muß ich betonen, daß es durchaus angezeigt gewesen war, mit derartig jungen Fischen zu arbeiten, weil die bisher vorliegenden Versuche anderer Autoren gerade in dieser Hinsicht eine Lücke belassen haben, und es fehlte deshalb in der Literatur nicht an Vermutungen, wonach nur ganz junge Fische sich direkt infizieren ließen. So schreibt M. Braun im Jahre 1883: „Weiter könnte man nach Erfahrungen bei anderen niederen Tieren annehmen, daß nur die junge Brut der Hechte infektionsfähig ist — eine Möglichkeit, die ich bisher bei meinen Untersuchungen ganz aus den Augen gelassen hatte ....“ (S. 49). Und Rud. Leuckart äußert sich bei Gelegenheit der Besprechung der negativen Resultate, die er selbst mit „jungen“ Hechten, Schauinsland mit jungen Quappen erzielt hatte, unter anderem wie folgt: „Ob die Versuchstiere, wenn auch jung, für eine Infektion doch vielleicht schon zu alt waren ...“ (S. 917, 918). Ich habe somit durch meine Versuche einen noch nicht betretenen Weg, von dem man Erfolg erwartete, erprobt. — Sollten auch etwa die ganz jungen Fischchen keinen geeigneten Boden für die Entwickelung der Plerocercoide darstellen, so würde doch immerhin bei der forcierten Infektionsmöglichkeit das erste Eindringen der Oncosphären wohl sicher festzustellen sein, und dieser Vorgang könnte sich mir bei der aufmerksamen Untersuchung der Versuchsfische unmöglich entziehen. — Im übrigen muß ich hinzufügen, daß es in meiner Absicht gelegen hatte, auch 1-jährige Hechte zu den Versuchen heranzuziehen; lediglich die Schwierigkeit, solche Hechte aus nicht infizierten Gebieten zu bekommen, hatte mich von derartigen Versuchen abgehalten.

IV. Kleine Versuche von kurzer Dauer.

1) 7. Juni, Boudry, morgens 10 h. Es werden einer jungen Trutta lacustris aus den Aquarien der Fischzuchtanstalt (diesjährige Brut) die Kiemen durch einen raschen Eingriff isoliert. Die lebendfrischen Kiemen, in denen aber freilich die Zirkulation bereits stockt, werden in ein Glasschälchen übertragen, in dem sich eine sehr große Anzahl frisch gesammelter Flimmerembryonen befindet. Das Verhalten der Embryonen wird von Zeit zu Zeit unter der Lupe beobachtet. Es läßt sich keinerlei richtender Einfluß auf die Bewegungen der Larven konstatieren. Um 3 h nachmittags werden die Kiemen in Formol konserviert. Am 8. Juni in Lausanne untersucht. Resultat absolut negativ.

2) 4. August, Boudry, 5 h nachmittags. 2 Hechtchen aus dem Stammaquarium (Meggen) werden Kiemen, Magen und Teile der Muskulatur in lebendfrischem Zustande entnommen; der Magen wird aufgeschnitten. Die Organe werden in ein kleines Zylinderglas gebracht, das eine sehr große Anzahl Flimmerembryonen enthält. Am 5. August, 8 h morgens, wird der Inhalt des Glases in Lausanne untersucht. Eine große Anzahl Embryonen schwebt noch unverändert im Zylinderglas. Eine sehr große Anzahl Embryonen sind bereits am Boden; ihre Flimmerhülle haben sie schon verlassen; manche Oncosphären sind noch von der inneren Hülle umgeben, in der sie eine exzentrische Stellung einnehmen. Die sofort vorgenommene Untersuchung konnte kein Eindringen der Oncosphären in die Organe des Hechtes nachweisen.

3) 13. Juni, Boudry, $11^3/_4$ h morgens. Es wird eine junge Trutta lacustris (diesjährig) in eine kleine Schale mit Seewasser und Algen eingesetzt. Das Seewasser ist sehr stark embryonenhaltig. Die Forelle lebt bis $5^1/_2$ h abends. Nach dem Tode wird sie in dem gleichen embryonenhaltigen Wasser aufbewahrt. Am 14. Juni, Lausanne, 8 h morgens Sektion. Eine Ulzeration des Magens wird vorgefunden. Im Magen und Darmkanal keine Embryonen, desgleichen nicht in den Wandungen. An den Kiemen in ganz losem äußeren Kontakt einige wenige, zum Teil vom Involucrum befreite, zum Teil nicht befreite Embryonen. Sämtlich anscheinend tot. Im übrigen durchaus negative Befunde, was das Peritoneum, Muskulatur und Haut anbetrifft.

4) 28. Juni, Boudry. 4 junge (2-jährige?) Perca fluviatilis („perchettes“) von ca. 7,5 cm Länge, die aus einem für mich von Herrn H. Jaques bei Cortaillod (Neuchâtel) gefangenen Schwarme stammen, werden in einem ca. 8 l fassenden Aquarium installiert. Der Inhalt besteht aus Seewasser, das mit Flimmerembryonen sehr stark durchsetzt ist; außerdem enthält das Aquarium grüne Algen. Der Versuch beginnt 5 h nachmittags. Um 9 h abends wird die Lüftungsvorrichtung eingesetzt, die nun ununterbrochen tätig bleibt. Nahrung wird nicht eingesetzt. Die Fische halten sich zunächst gut. Am 4. Juli sind alle 4 Versuchstiere tot. Dauer des Versuches $5^1/_2$ Tage. — [Wenn auch die Versuchsfische aus dem Lac de Neuchâtel stammen, so hatte eine präventive Untersuchung von 16 Exemplaren ergeben, daß die jungen Barsche nicht infiziert waren. Gemeint ist freilich bei dieser Art von Untersuchung die Abwesenheit der gewöhnlichen Plerocercoide, sowie einiger jüngerer Stadien, die bei schwacher Vergrößerung sichtbar gewesen wären. Eine ganz minutiöse Analyse auf Anfangsstadien — wie ich sie bei den Versuchsfischen stets anwende — konnte, weil sie sehr zeit-

raubend ist, bei den genannten 16 Exemplaren nicht ausgeführt werden[1]).]

Die Untersuchung der 4 jungen Barsche, wobei auch der Haut eine besondere Aufmerksamkeit geschenkt wurde, ergibt völlig negative Resultate. Als einziger in Frage kommender Befund ist zu erwähnen bei einem Exemplar das Vorkommen einer Cyste in der Wandung des Mitteldarmes. Die ovale, doppeltkonturierte Cyste von 0,032 mm im längeren Durchmesser beherbergt einen länglichen, zum Teil auf sich selbst gekrümmten, wurmartigen Körper, welcher den transversalen Durchmesser der Cyste nicht vollständig ausfüllt; die Anwesenheit von Haken konnte nicht festgestellt werden. — Auch in diesem Falle steht der isolierte Befund in gar keinem Verhältnis zum verwendeten Infektionsmaterial.

5) Die stets negativ ausfallenden Befunde in bezug auf das Eindringen der Flimmerembryonen in den Magen resp. Darmkanal hatten mich bewogen, die Versuchsfische zuerst hungern zu lassen, sodann in Kontakt mit Nahrung und Flimmerlarven zu bringen.

30. Juli, Boudry. 2 diesjährige Trutta lacustris werden in fließendes Wasser ohne Nahrung gesetzt. 31. Juli nachmittags werden die Fische in ein kleines Einmachglas (ca. $^1/_4$ l) mit stark flimmerlarvenhaltigem Wasser, Algen und Daphniden eingesetzt. Das Exemplar A frißt reichlich Daphniden, schon $1^1/_2$ Stunden nach Beginn des Versuches legt es sich um und wird noch lebend konserviert. Das Exemplar B bleibt frischer; nach $1^1/_2$ Stunden seit Versuchsbeginn wird es in laufendes Wasser gebracht, lebt munter weiter und wird nach 2 Stunden konserviert, d. h. $3^1/_2$ Stunden seit Versuchsbeginn.

Die Untersuchung erfolgt am 1. August (Lausanne). Exemplar A. Haut und Kiemen vollkommen negativ. In vorsichtig abgeschabter Magenschleimhaut werden 3 Embryonen vorgefunden, alle 3 noch mit Hüllen versehen, obschon die Cilien nicht mehr sichtbar sind; die Hüllen erscheinen in 1 Fall stark zusammengeschrumpft, in 2 anderen normal. Keine von Hüllen befreite Embryonen vorgefunden. Der Darmkanal enthält Reste halbverdauter Daphnien, wohl von der Ernährung während des Versuches stammend. Keine Larven im Darmkanal. Appendices pyloricae, Leber und Peritoneum ergeben sämtlich negative Befunde.

Exemplar B. Enthält im Darmkanal keine Ueberreste von Daphnien. Sämtliche Befunde sind negativ.

Der unter 5) geschilderte Versuch wurde, unter Weglassen der 24-stündigen Hungerperiode, in wesentlich gleicher Form bereits am 14. Juli mit 4 Trutta lacustris und am 19. Juli mit 2 Trutta lacustris ausgeführt. Ergebnisse vollständig negativ.

6) 3. August, Boudry. 2 Hechtchen aus dem Stammaquarium (Meggen), die nun erheblich herangewachsen waren, werden ohne Nahrung in fließendem Wasser isoliert. 4. August nachmittags 5 h werden dieselben in ein Einmachglas ($^1/_4$ l) mit wenig Seewasser, das außerordentlich viel Flimmerembryonen enthält, außerdem Daphniden und Algen, eingesetzt. Das eine Exemplar wurde unter unveränderten Bedingungen bis zum Morgen des 5. August, das andere bis zum Morgen des 6. August lebend erhalten, darauf in lebendfrischem Zustand kon-

---

[1] Die im Frühjahr 1916 in der Fischzuchtanstalt Boudry für meine Zwecke unternommene künstliche Aufzucht von Perca fluviatilis hatte leider, nach einem anfänglichen Erfolg, keine Resultate gezeitigt. Bekanntlich ist die künstliche Zucht der Barsche eine sehr heikle Aufgabe.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

serviert. Die Untersuchung ergibt: Kiemen und Haut negativ. Sehr wenig von den Daphniden gefressen. Keine Flimmerlarven (resp. freie Embryonen) im Magen und Darmkanal vorgefunden; keine Einschlüsse in Magen- und Darmwand; Peritoneum negativ.

7) Anschließend schildere ich hier einen kleinen Versuch, der seiner Natur nach einer ganz anderen Serie zuzuzählen gewesen wäre, indem er mit der Voraussetzung der Existenz eines 1. wirbellosen Zwischenwirtes arbeitet. Ich habe Proben aus den erstaunlich üppigen Kulturen des Herrn Henri Jaques in der Fischzuchtanstalt Boudry benützt, um festzustellen, ob etwa die Planktonorganismen Zwischenträger einer unbekannten Larvenform sind.

22. Juni, Boudry, vormittags 11 h. Ein reicher Fang lebendfrischer Daphniden (Eurycercus lamellatus) aus den Kulturbassins der Anstalt wird in ein ½ Literglas mit Seewasser eingesetzt, das in starker Konzentration Flimmerembryonen enthält. Die Lüftung wird durch grüne Algen besorgt. Das Glas wird kühl und schattig gehalten. Ein Teil des Inhalts, der keine abnormen Erscheinungen aufweist, wird nachmittags 4 h in Formol konserviert, der übrige Teil wird nach einem erneuten Zusatz von Flimmerlarven weiter aufbewahrt. Die Daphnien leben im allgemeinen gut. In dem Maße, wie sie absterben, werden sie konserviert. Eine gute Portion bleibt am Leben bis zum 1. Juli, wo sie konserviert wird. Die Maximaldauer des Versuches somit 8 Tage.

Die mikroskopische Untersuchung der guterhaltenen, durchsichtigen Gewebe, über eine große Anzahl Individuen sich erstreckend, hatte keine verdächtigen Einschlüsse zutage gefördert.

Der Versuch wurde im Monat Juli unter ähnlichen Bedingungen wiederholt. Untersuchungsresultat gleichfalls negativ.

Nach dem Obigen erachte ich es in hohem Grade wahrscheinlich, daß die Daphniden des Planktons nicht den 1. Zwischenträger des D. latus abgeben; immerhin sind weitere Beobachtungen nötig. In dieser Hinsicht ist es nicht ohne Interesse, zu erwähnen, daß die Hauptplanktonfresser — die Coregonen — nach den bis jetzt vorliegenden Angaben anscheinend nur sehr selten mit Plerocercoiden behaftet sind[1]).

V. Direkte Inokulation von Flimmerembryonen in den Körper der Fische (*Perca fluviatilis*, *Lota vulgaris*).

Diese Versuche wurden auf Anregung und in Gemeinschaft mit Herrn Prof. Galli-Valerio ausgeführt. Sowohl aus technischen Schwierigkeiten, wie infolge von starker Inanspruchnahme durch andere Versuche und Beobachtungen ist diese Serie nur fragmentarisch ausgefallen. Ferner war es mir aus Zeitmangel nicht möglich, Kontrolltiere in genügendem Maße einer ausgiebigen Untersuchung zu unterziehen.

1) 20. Juni werden in Lausanne an 5 „perchettes“ von Ouchy im wesentlichen technisch orientierende Vorversuche ausgeführt. Einer verdient Erwähnung: In die Leibeshöhle einer jungen Perca fluviatilis werden vermittels einer Pravaz-Injektionsspritze ca. 2 ccm stark flimmerembryonenhaltiges Wasser eingespritzt, durch Anstich von der ven-

---

[1]) M. Schor hatte 15 Coregonus fera des Léman ohne Infektion gefunden; in 6 weiteren Exemplaren wurden 8 Plerocercoide angetroffen (9). C. Ketchekian untersuchte 8 Coregonus fera, aus verschiedenen Punkten des Léman, ohne ein infiziertes Exemplar zu finden (6).

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

tralen Seite vor dem After (9 h abends). Am anderen Morgen wird der Fisch in einem Aquarium mit leicht fließendem Wasser (Eau de Bret) tot aufgefunden. Es kann nur eine geringe Anzahl abgestorbener Larven in der Leibeshöhle wiedergefunden werden; ihre Veränderungen sind nicht abweichend von solchen, wie sie etwa in kleinen Glasschälchen nach 24 Stunden zu beobachten sind. Ein einziger, von den Involucra vollständig befreiter Embryo, mit deutlichen normalen Haken, wird in der der dorsalen Muskulatur anliegenden Peritonealhaut festgestellt. Bewegungen waren am Embryo nicht zu beobachten; er war anscheinend tot. — Diesen unbestrittenen Befund betrachte ich dennoch als in keiner Weise beweiskräftig. In einem organischen Milieu befindlich, ist — unter sehr vielen — eine einzige Larve in das zarte Peritoneum eingedrungen.

2) 14. Juli, Boudry, nachmittags 4—8½ h. Zu Versuchen wurden verwendet: 4 mittelgroße Perca fluviatilis sowie 3 Lota vulgaris (von ca. 28 cm Länge), sämtlich aus dem Lac de Neuchâtel. Die 3 Quappen sind schon seit einigen Tagen in fließendem Wasser, im Dunkel aufbewahrt, und haben seit dieser Zeit gehungert; ihr Zustand ist ausgezeichnet. Große Mengen von Flimmerembryonen stehen in zahlreichen Kulturen zur Verfügung.

A. Versuche mit Barschen.

a) 2 Barsche erhalten je eine Injektion in die Leibeshöhle.

b) 2 in die dorsale Rumpfmuskulatur, rechts resp. links (die injizierten Stellen werden an der Verteilung der dunklen Hautstreifen kenntlich; die einzelnen Fischexemplare durch Fadenmarken an den Flossen voneinander unterscheidbar)[1]).

Die 2 Exemplare unter a) sind am 16. Juli tot. Die Untersuchung des Peritoneums bei dem einen Exemplar fällt negativ aus, bei dem anderen ebenfalls, bis auf eine einzige, im Peritoneum eingeschlossene, oblonge Cyste von 0,110 mm Länge. Die Cyste weist 2 polar angebrachte, unregelmäßig begrenzte Kappen, sowie einen annähernd zentral gelegenen, feingranulierten Inhaltskörper; Haken sind nicht feststellbar. Dieser Befund bleibt vereinzelt.

Von den 2 Exemplaren unter b) ist das eine am 18. Juli tot; die Untersuchung völlig negativ. Das andere Exemplar lebt weiter und wird am 25. Juli konserviert. In der dorsalen Muskulatur, der injizierten Stelle entsprechend, wird ein einziges rundes Körperchen von 0,036 mm Durchmesser gefunden; eine besondere Hülle fehlt, Inhalt grob granulös, gegen den Rand zu homogener; Haken nicht nachweisbar.

B. Versuche mit Quappen.

a) Einer lebendfrischen Lota vulgaris wird der Magen und Darm herausgeschnitten. Durch Auspressen und vorsichtiges Abschaben der inneren Magen- resp. Darmwand wird ein Schleim gewonnen, der wohl

---

[1]) Da in den in Rede stehenden Experimenten Flimmerembryonen künstlich an einen Ort des Fisches verpflanzt werden, wo sie in dieser Form in der Natur niemals vorkommen, so ist es nicht überflüssig, in diesem Zusammenhang daran zu erinnern, daß das nächsthöhere bekannte Stadium, das Plerocercoid, ein gewisses Emanzipationsvermögen von den Bedingungen seines natürlichen Aufenthaltsortes aufweist. Wenig bekannt ist der Versuch Galli-Valerios, wonach lebende Plerocercoide im Abdomen sowie im encystierten Zustande in der Dorsalmuskulatur des Abdomens und im Ovarium eines Frosches gefunden wurden, dem 2 Monate vorher Plerocercoide von D. latus direkt ins Abdomen inokuliert worden waren (5, S. 366).

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

als magensaft- resp. darmsafthaltig betrachtet werden kann. Reaktion in beiden Fällen neutral. Wenn auch die beiden Sekrete, infolge des Hungerzustandes, nicht als völlig aktiver Magen- resp. Darmsaft angesprochen werden können, so ist es doch nicht ohne Interesse, das Verhalten der Flimmerlarven gegenüber diesen Säften zu beobachten, da in der Natur ähnliche Bedingungen sehr wohl realisiert werden können. Abends 6^{05} resp. 6^{10} h werden in Uhrschalen mit derart gewonnenem Magen- resp. Darmsaft Flimmerembryonen hineingetan und unter dem Mikroskop verfolgt. Aussehen der Larven bleibt normal, ebenso die Bewegung. Gegen 7 h wird die Beobachtung unterbrochen und der Inhalt in kleinen Zylindergläsern aufbewahrt. 15. Juli (Lausanne) morgens 8 h. Der Inhalt wieder untersucht. Die Reaktion bleibt in beiden Fällen neutral. Fast alle Embryonen sind unverändert im Aussehen, die Cilienbewegung dauert an, wenn sie auch langsamer geworden ist (es ist wohl auch die Dicke der schleimigen Flüssigkeit zu bedenken). Im allgemeinen scheinen die Embryonen im Darmsaft mehr gelitten zu haben als im Magensaft. Die Haken zeigen keine Beweglichkeit. — Im Laufe des Nachmittags stellen sich Absterbeerscheinungen ein, wie sonst beim Aufbewahren von Embryonen in kleinen Behältern.

Es darf wohl der Schluß gezogen werden, daß bei einem über 12 Stunden langen Aufenthalt der Flimmerlarven in einer magensaft- resp. darmsafthaltigen Flüssigkeit von Lota vulgaris die Embryonen von ihren Hüllen nicht befreit werden und auch nicht getötet werden.

b) Einer lebenskräftigen, frisch getöteten Lota vulgaris wird 6½ h abends der Magen unterhalb der Appendices pyloricae unterbunden. Durch den Oesophagus wird mittels Pipette eine beträchtliche Menge Flimmerembryonen eingeführt, darauf der Oesophagus unterbunden. Eine ähnliche Operation wird mit dem Darmkanal ausgeführt. Ueber Nacht werden die aus dem Körper isolierten Organe in feuchtem Zustande aufbewahrt. 15. Juli morgens 9 h. Untersuchung des Magens: Lebende Flimmerlarven werden keine mehr vorgefunden. Eine Anzahl toter Larven zeigt wenig verändertes Aussehen; die Embryonen sind von den Hüllen nicht befreit. In der Magenwand keine Embryonen nachweisbar. — Die Untersuchung des Darmkanals war ergebnislos. — Der Versuch scheint, was die Wirkung des Magens anbetrifft, das unter a) verzeichnete Resultat zu bestätigen; der Tod der Embryonen ist auf Luftmangel zurückzuführen.

c) 7 h abends. Es wird eine Injektion von ca. 2 ccm stark mit Flimmerembryonen durchsetzten Wassers in die Leibeshöhle von Lota vulgaris von der ventralen Seite aus ausgeführt. Der Fisch lebt isoliert in einem Aquarium mit fließendem Wasser munter weiter und wird am 4. August, d. h. am 21. Tage nach der Operation, konserviert. Die Untersuchung der Muskulatur fällt negativ aus. Im Peritoneum werden auf einem Raum von 1 qm 3 runde oblonge Cysten von ca. 0,081 und mehr im Durchmesser vorgefunden. Die Cysten sind sehr scharf umgrenzt — die mehrschichtige, bindegewebige Hülle scheint Produkt des Wirtes zu sein — und beherbergen einen granulösen wurmartigen Körper als Inhalt; Haken nicht nachweisbar. — In Anbetracht des Umstandes, daß dieselbe Quappe verschiedenartige encystierte parasitäre Gebilde in der Magenwand aufgewiesen hatte — die schon ihrer Größe wegen mit der künstlichen Infektion nichts zu tun haben —, ferner in Anbetracht der geringen Anzahl von Cysten gegenüber dem verwandten Infektions-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

material, kann ich keine Relation erblicken zwischen der Inokulation und dem Befund.

VI. Schlußfolgerungen.

Das Schwergewicht meiner Untersuchungen erblicke ich im negativen Resultat der Versuchsserien mit Forellen und Hechten, sowie der kleinen Versuche mit denselben Fischen. Mag bei einem negativen Ablauf von Versuchen immer noch im allgemeinen die Möglichkeit offen bleiben, die Schuld sei der Versuchsanordnung zuzuschreiben, so muß ich bezüglich meiner Experimente einen Umstand betonen, welcher eine derartige Ausflucht höchst unwahrscheinlich macht. Es ist das die enorme Menge von Flimmerembryonen, die mir bei einem jeden meiner Versuche zur Verfügung gestanden hatte und verwendet worden ist. In dieser Hinsicht glaube ich, nicht fehlgehen zu dürfen in der Annahme, daß vor mir keiner der Autoren, welche eine direkte Infektion anzuwenden versuchten, unter derartig günstigen Umständen gearbeitet hatte, und ich glaube daher, meinen negativen Ergebnissen eine tatsächliche Beweiskraft als Indizien eines unbekannten 1. Zwischenwirtes zuschreiben zu können. Vorausgesetzt, daß die Träger der Plerocercoide, also auch die von mir verwendeten Fischarten, in der Natur die Infektion durch Flimmerembryonen erleiden, hätte mir dieser Vorgang in den zahlreichen Experimenten unmöglich entgehen können. Nicht gleichgültig ist in diesem Zusammenhang ein Vergleich mit Fasciola hepatica. Zwar handelt es sich ja um verschiedene Gebilde, aber immerhin um Verwandte, und speziell in der eigentlichen Embryonalentwickelung gibt es zwischen den Bothriocephalen und Distomeen der Vergleichsmomente gar viele. Da ist es von Interesse, an die Beobachtungen Leuckarts zu erinnern, welcher Autor einen wahren Ansturm von Miracidien auf den ersten Zwischenwirt, Lymnaeus minutus, beschreibt. „Schon nach wenigen Minuten sind Fühler, Kopf, Fuß und Mantelrand wie bespickt mit Embryonen." „Ich habe Schnecken gesehen, die Hunderte von Eindringlingen in dem Lungendeckel beherbergten" (S. 264). Ein wesentlicher Unterschied ist zwar im Bau und physiologischen Verhalten zwischen dem Miracidium der Trematoden und der Flimmerlarve der Bothriocephalen gegeben: das Miracidium von Fasciola greift das Gewebe des ersten Zwischenwirtes aktiv, mittels seines Bohrstachels an, während es sich noch im Besitz seines Flimmerkleides befindet; die Flimmerlarve von Bothriocephalus kann von ihrer Waffe (6 Haken) erst Gebrauch machen, wenn sie von ihren Hüllen befreit ist. Folglich geschieht, meiner Ansicht nach, die Aufnahme der Flimmerlarve von Bothriocephalus mit größter Wahrscheinlichkeit passiv in eine Höhlung resp. Kanal des Zwischenwirtes. Diesen Unterschied im Auge behaltend, müßte aber dennoch, in Anbetracht der künstlich gebotenen enormen Anzahl der infizierenden Larven, das Schlußresultat in dem einen wie in dem anderen Falle wenigstens annähernd vergleichbar ausfallen. Niemals habe ich nun etwas beobachtet, das dem von Leuckart geschilderten Ansturm auch nur entfernt zur Seite zu setzen gewesen wäre.

Ich muß besonders die Fähigkeit der in den Experimenten verwendeten Fische hervorheben, aus dem sie umgebenden, mit Flimmerembryonen reich und gleichmäßig durchsetzten Wasser keine Larven in den Magen resp. in den Darmkanal passieren zu lassen. Die Fähigkeit scheint sogar bis zu einem bestimmten Grade zu bestehen, wenn der

Fisch gleichzeitig Planktonorganismen (z. B. Daphniden) als Nahrung aufnimmt. Es handelt sich hier offenbar um das rätselhafte, noch wenig studierte Vermögen der elektiven Ernährung der Fische, das in bezug auf Crustaceenarten des Planktons beobachtet worden ist. Wie dem auch sei, deuten die registrierten Tatsachen darauf hin, daß zwischen Flimmerembryo und Fisch (gemeint sind die oben untersuchten Arten) nicht nur keine Attraktion, sondern sogar eine Art Repulsion besteht.

Das Obige vorausgeschickt, glaube ich mich berechtigt, folgende Schlußfolgerung formulieren zu können: Die in den Experimenten verwendeten Fische (Trutta, Esox, Perca, Lota, die 2 erstgenannten in ihrem Jugendalter) erweisen sich als immun in bezug auf Flimmerembryonen von Dibothriocephalus latus; es ist somit die Existenz eines unbekannten ersten Zwischenwirtes anzunehmen.

In diesem Sinne hatte sich bereits im Jahre 1883 Max Braun ausgesprochen. Freilich hatte Braun in der Folge seine Ansicht zugunsten einer vermuteten direkten Infektion geändert. Doch glaube ich nicht fehlgehen zu dürfen, wenn ich die erstere Ansicht von Braun mehr aus dem organischen Kontakt mit dem Arbeitsobjekt entwickelt, die zweite durch noch nicht bestätigte Literaturangaben beeinflußt betrachte. In neuester Zeit hatte sich Galli-Valerio, auf Grund seiner Versuche, in dem hier vertretenen Sinne geäußert.

VII. Zusammenfassung.

1) Flimmerembryonenkulturen (in Petri-Schalen) werden angesetzt mit einem durch sukzessive Waschungen der menschlichen Faeces gewonnenen, stark konzentrierten Eiermaterial von D. latus. Bedingungen der Entwicklung sind: Verdünnung der Faeces, Luftzutritt und genügende Temperatur. Die Entwickelungsdauer des Eies, vom Moment der Isolierung aus den Fäkalmassen bis zum Ausschlüpfen der Flimmerembryos, beträgt bei mittlerer Zimmertemperatur im Minimum 13 Tage, im Maximum 5 Wochen. Die Flimmerlarvenproduktion in einer Kultur hält in der Regel 2—3 Wochen an. Unter Laboratoriumsbedingungen stehen zu jeder Jahreszeit enorme Mengen von Flimmerembryonen, deren Entstehungsmoment sich genau regulieren läßt, als Infektionsmaterial zur Verfügung.

2) Versuche mit jungen, im Maximum bei Versuchsanfang 3 Monate alten, künstlich gezüchteten Forellen (Trutta lacustris, Trutta iridea, Salmo salvelinus), im ganzen 106 Exemplare, wurden in nicht fließendem Seewasser (Lac de Neuchâtel) mit künstlicher Durchlüftung in der Zeit vom 27. Mai bis 31. Juli resp. 20. Oktober durchgeführt. Die Infektionsphase dauerte vom 27. Mai bis 22. Juni. Keine unzweideutigen positiven Befunde.

3) Versuche mit ca. 2 Monate alten, künstlich gezüchteten Hechtchen (Esox lucius) zu 20 resp. 70 Stück wurden in nicht fließendem Seewasser, mit grünen Algen als Luftquelle, in der Zeit vom 24. Juni bis 4. Juli, resp. vom 1. Juli bis 31. Juli durchgeführt, unter Verwendung von enormen Mengen von Flimmerembryonen im Verhältnis zum Wassergehalt des Aquariums (ca. 3 l). Keine positiven Befunde.

4) Lebendfrische Kiemen von jungen Trutta lacustris, resp. Esox lucius wurden von Flimmerembryonen nicht angegriffen. Kleinere Versuche von kurzer Dauer (wenige Stunden bis 5 Tage) mit jungen Trutta lacustris, Esox lucius, sowie mit 2-jährigen Perca fluviatilis ergeben keine unzweideutigen positiven Resultate. Junge Trutta lacustris und Esox lucius haben die Fähigkeit, aus einem stark mit Flimmerembryonen durchsetzten Wasser ihrer Umgebung keine Larven in den Magen- resp. Darmkanal passieren zu lassen. Wo Flimmerembryonen in den lebenden Magen geraten sind, wurden die Embryonen von ihren Hüllen nicht befreit.

5) Versuche, Daphniden zu infizieren (Eurycercus lamellatus), sind negativ ausgefallen.

6) Bei direkter Inokulation einer großen Menge von Flimmerembryonen in die Leibeshöhle einer lebenden Perca fluviatilis wurde ein einziger Embryo, von Hüllen befreit, in der Peritonealhaut eingebettet, vorgefunden. Im übrigen keine unzweideutigen Befunde bei weiteren Operationen dieser Art bei Perca und Lota vulgaris. 12-stündiger Aufenthalt von Flimmerembryonen in einem aus Magen- resp. Darmwand von Lota vulgaris gewonnenen Sekret (neutrale Reaktion) befreit die Embryonen nicht aus ihren Flimmerhüllen; die Larven überleben den Versuch. In frisch herauspräparierten, am Oesophag und unterhalb der Appendices unterbundenen Magen von Lota vulgaris werden die Flimmerlarven von ihren Hüllen nicht befreit.

7) Die vorstehenden Versuche berechtigen zu der Schlußfolgerung, daß Trutta, Esox, Perca, Lota immun sind in bezug auf Flimmerembryonen von D. latus, und daß die Existenz eines unbekannten 1. Zwischenwirtes angenommen werden muß.

Lausanne, Mitte Januar 1917.

Literatur.

1) Braun, M., Zur Entwickelungsgeschichte des breiten Bandwurmes (Bothriocephalus latus Brems.). Würzburg 1883.
2) — Vermes. Abt. Ib. Cestodes. (Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Leipzig 1894—1900.)
3) — u. Seifert, O., Die tierischen Parasiten des Menschen. Abt. I v. M. Braun.
4) Galli-Valerio, Br., La Collection de Parasites du Laboratoire d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne. (Bull. Soc. Vaud. Sc. nat. T. 37. Lausanne 1901.)
5) — Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1916.)
6) Ketchekian, C., Nouvelles recherches sur les larves de Dibothriocephalus latus L. [Thèse de doctorat.] Lausanne 1909.
7) Leuckart, R., Die Parasiten des Menschen. 2. Aufl. Bd. 1. 1879—1886; Bd. 2.
8) Schauinsland, H., Die embryonale Entwickelung der Bothriocephalen. (Jenaisch. Zeitschr. f. Naturw. Bd. 19. 1886.)
9) Schor, M., Contribution à l'étude du Bothriocephalus latus Brems. [Thèse de doctorat.] Lausanne 1902.
10) Vogt, C., La provenance des entzoaires de l'homme et leur évolution. Genève 1878.
11) Zschokke, F., Der Bothriocephalus latus in Genf. (Centralbl. f. Bakt. Bd. I. 1887.)
12) — Ein weiterer Zwischenwirt des Bothriocephalus latus. (Ibid. Bd. 4. 1888.)

Nachdruck verboten.

Verwendung von Nährböden mit hohem Gelatinegehalt: ein neues Plattenverfahren zum zahlenmässigen Nachweis vereinzelter spezifischer Keime in grösseren Flüssigkeitsmengen, insbesondere bei Desinfektions- und Filterversuchen.

[Aus der Kgl. Landesanstalt für Wasserhygiene in Berlin-Dahlem.]

Von Dr. med. **Bernhard Bürger,**

wissenschaftl. Mitglied der Kgl. Landesanstalt für Wasserhygiene in Berlin-Dahlem.

Mit 3 Tafeln.

Wenn es beim bakteriologischen Arbeiten, etwa bei Desinfektionsversuchen oder der Prüfung der Wirkung von Filtern, darauf ankam, etwas größere Wassermengen auf lebend gebliebene spezifische Keime zu untersuchen, mußte man früher im allgemeinen auf die Anwendung fester Nährböden und damit auf eine genauere zahlenmäßige Feststellung der überlebenden Keime verzichten und zur Anreicherung des Wassers mit Nährstoffen greifen, also zur Verwendung flüssiger Nährböden mit allen ihren Nachteilen. Zuweilen wurden zwar zwecks genauerer Bestimmung gleichwohl etwas größere Wassermengen auf festen Nährböden verarbeitet; man brauchte dann aber verhältnismäßig sehr viele Platten, gleichgültig, ob man Oberflächen-Ausstrichkulturen anlegte (vielfach auf Agarnährböden), oder ob man die Flüssigkeit zu Gußplatten verarbeitete (meist mittels Nährgelatine). So brauchten z. B. Ditthorn und Luerssen[1]) bei Versuchen zur Ermittelung der Durchlässigkeit eines Bodens für Bakterien, um nur 11 ccm Filtrat auf Prodigiosus-Keime zu untersuchen, 7—8 Platten: 6 Gelatineschalen zur Verarbeitung von etwa 10 ccm Filtrat zu Gußplatten und außerdem noch 1—2 große Agarplatten von 20 cm Durchmesser zum Ausstreichen von 1 ccm Filtrat. Seit einigen Jahren stehen uns aber für den direkten zahlenmäßigen Nachweis spezifischer Keime in etwas größeren Wassermengen auf festen Nährböden vor allem zwei Verfahren zur Verfügung: die Gipsplattenmethode nach Arno Müller[2]) und das Göttinger Verdunstungsverfahren. Die Gipsplattenmethode ist nach meinen Erfahrungen für ihren besonderen Zweck, den Prodigiosus-Nachweis, wegen der kräftigen Farbstoffbildung zweifellos sehr gut geeignet, wie auch Spitta[3]) betont; ein gewisser Nachteil liegt allerdings darin, daß man die einzelnen Platten, da sie nur einmal zur Verwendung kommen können, nicht auf die für ihre Anwendung unbedingt erforderliche Fähigkeit, alle Keime restlos an der Oberfläche bzw. in den alleroberstem Schichten festzuhalten, prüfen kann. Diese speziell für den Prodigiosus-Nachweis angegebene Methode scheint für andere Keimarten weniger geeignet zu sein. Meine Versuche, sie auch für andere Farbstoffbildner (Bact. violaceum) heranzuziehen, sind bisher nicht zufriedenstellend ausgefallen. Auch scheinen die vom Verf. als aussichtsreich erwähnten Versuche, das Verfahren für den Nachweis des Bact. coli im keimarmen Wasser heranzuziehen, keinen guten Erfolg gehabt zu haben, da sie bisher meines Wissens nicht veröffentlicht worden sind. Für stärkeren Bedarf ist übrigens auch der ziemlich hohe Preis der nur einmal zur Verwendung gelangenden Gipsplatten störend; es kostet nämlich bei Altmann-Berlin die für Petri-Schalen bestimmte Größe (8 cm Durchmesser) das Stück zurzeit 98 Pf., unter normalen Verhältnissen etwa 40 Pf. Stellt man die Gipsplatten nach der vom Verf. gegebenen Anweisung selbst her, so mögen sie billiger werden, doch ist die eine gute Technik erfordernde Herstellung nicht jedermanns Sache.

---

[1]) Ditthorn und Luerssen, Untersuchungen über die Durchlässigkeit des Bodens für Bakterien, ausgeführt in den Bezirken der Berliner Wasserwerke von Tegel und Friedrichshagen (Müggelsee). (Gesundheits-Ingenieur. Bd. 32. 1909. S. 681—686.

[2]) Müller, Arno, Dr., Ein neues Verfahren zum Nachweis spezifischer Bakterien in größeren Wassermengen. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amt. Bd. 47. 1914. S. 513/26.)

[3]) Spitta, Prüfung tragbarer Wasserfilter auf Keimdichtigkeit. Das Militär-Filter, Modell 1914, und das Reise- und Armee-Filter A.F. I der Berkefeld-Filter-Gesellschaft. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amt. Bd. 50. 1915. S. 263—277.)

Die zweite für den genannten Zweck zur Verfügung stehende Methode, das mit einem Warmluftstrom arbeitende Göttinger Verdunstungsverfahren, angegeben durch v. Esmarch, zuerst bekanntgegeben durch Ingelfinger[1]) und Marmann[2]), hat sich gleichfalls gut bewährt. Immerhin ist es nur für eine spezielle Keimart erprobt, das Bact. coli, das die dabei angewandten etwas höheren Wärmegrade (etwa 40—50° C) gut verträgt. Auch sind einerseits die zur Untersuchung kommenden Wassermengen relativ klein, andererseits erfordert gleichwohl ihre Verdunstung ziemlich viel Zeit, während der — auch bei den am meisten vervollkommneten Apparaten — eine gewisse Ueberwachung notwendig ist. So brauchte Oettinger[3]) bei einer Temperatur von 50° C etwa 35—55 Minuten für die Verdunstung von 10 ccm Wasser. Gins[4]) brachte zur Erzielung einwandfreier Ergebnisse ganz kurze Verdunstungszeiten in Anwendung, damit eine Vermehrung der Coli-Keime ausgeschlossen wäre, und konnte deshalb jeweils nur 2,5 ccm Wasser zur Verdunstung bringen, die in einer Petri-Schale mittels des Faust-Heimschen Schnelleindampfapparates binnen 15—20 Minuten verdunstet wurden. Das Verfahren ist also für manche Zwecke mit zahlreichen Proben, z. B. Desinfektions- oder Filterversuche, zu umständlich und auch wohl im Betriebe zu teuer. Dazu erfordert es eine besondere Apparatur, deren wohl „eleganteste“ Form, der im Neisserschen Institute in Frankfurt a. M. für diesen Zweck angewandte[5]) Faust-Heimsche Schnelleindampfapparat, nach der Lautenschlägerschen Preisliste vor dem Kriege, je nach Ausführung, 540—570 M. kostete. Aus all diesen Gründen scheint das Verfahren sich übrigens nur in reicher ausgestatteten oder mit Wasseruntersuchungen

---

1) Ingelfinger, Diskussionsbemerkung auf der 79. Versamml. Deutsch. Naturf. u. Aerzte in Dresden. 1907. (Ref. Hyg. Centralbl. Bd. 3. 1907. S. 527.)

2) Marmann, a) Bericht über die Tätigkeit des bakt. Untersuchungsamtes zu Göttingen im Jahre 1907/08. (Hyg. Rundsch. 1908. S. 1017.) b) Ein neues Verfahren zum quantitativen Nachweis des Bact. coli im Wasser. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. S. 267—283.)

3) Oettinger, W., Die bakteriologische Kontrolle von Sandfilteranlagen. (Zeitschrift f. Hyg. Bd. 71. 1912. S. 1—156.)

4) Gins, Beitrag zur Technik der Coli-Untersuchung von Trinkwässern mit besonderer Berücksichtigung filtrierter Oberflächenwässer. (Veröffentl. a. d. Geb. d. Med.-Verw. Bd. 3. 1914. S. 199—230.)

5) Neisser, M., Qualitatives und quantitatives Arbeiten in der Bakteriologie (Bakterienzählung). (Handb. d. Hyg. von Rubner, Gruber u. Ficker, Bd. 3. Abt. 1. Leipzig [S. Hirzel] 1913. S. 191.)

besonders häufig beschäftigten Instituten eingeführt zu haben. Nicht geeignet ist es zudem für Wasseruntersuchungen an Ort und Stelle, da es wegen der umfangreichen Apparatur nur im Laboratorium anwendbar ist; die zu untersuchenden Wasserproben müssen also erst den unter Umständen lange dauernden Transport zum Laboratorium durchmachen.

Es besteht demnach zweifelsohne das Bedürfnis nach einem für alle Keimarten sich eignenden, einfach und bequem zu handhabenden, billigen und deshalb auch für kleine Laboratorien empfehlenswerten Züchtungsverfahren zum direkten zahlenmäßigen Nachweis vereinzelter Keime in größeren Flüssigkeitsmengen. Diese von mir bei mannigfachen Versuchen empfundene Lücke auszufüllen, schien mir die Anwendung hochprozentiger Gelatinenährböden geeignet. Die üblichen Gelatinenährböden enthalten bekanntlich im allgemeinen ca. 10 Proz. Rohgelatine. Die zur Anlegung einer Petri-Schalenkultur ausreichende Menge von 10 ccm Nährgelatine beschickt man bei Wasseruntersuchungen und dergleichen gewöhnlich mit etwa 1—1½ ccm Wasser bzw. mit weniger. Erheblich mehr Flüssigkeit kann von 10 ccm des genannten Nährsubstrats nicht aufgenommen werden, ohne daß der Nährboden in seiner Zusammensetzung stark verändert wird und in seinen Eigenschaften leidet. Bei Erhöhung des Gehalts an Rohgelatine in dem Nährboden mußte eine entsprechend größere Menge Wasser aufgenommen werden können, ohne daß in dem schließlich tatsächlich als Nährboden dienenden Nährmedium der Gehalt an Rohgelatine und damit die Erstarrungsfähigkeit, bzw. die Konsistenz der Nährgelatine-Wassermischung geändert wurde. Z. B. mußten 10 ccm eines 20 Proz. = 2 g Rohgelatine enthaltenden Nährbodens die Aufnahme von 10 ccm Wasser, bzw. 10 ccm einer 30-proz. Gelatine (mit 3 g Rohgelatinegehalt) die von 20 ccm Wasser ermöglichen und nachher 20 bzw. 30 ccm einer 10 Proz. Rohgelatine enthaltenden Nährgelatine-Wassermischung ergeben. Wurden in der hochprozentigen Nährgelatine zugleich mit dem Rohgelatinegehalt auch alle anderen Zusätze, also die Nährstoffe und der Grad der Alkaleszenz oder der Azidität, entsprechend der späteren Verdünnung, erhöht, so mußte bei richtigem Wasserzusatz das jeweils im Gebrauch schließlich entstehende Nährgelatine-Wassergemisch immer gleiche Zusammensetzung haben, nämlich die der üblichen 10-proz. Nährgelatine. (Die wechselnde chemische Zusammensetzung der Wässer ist hier außer acht gelassen.) Es mußten demnach auch alle Wachstumsverhältnisse unverändert die der üblichen Nährgelatine bleiben, natürlich auch die Züchtungstemperatur (von etwa 22° C).

Von der hochprozentigen Nährgelatine früherer Autoren unterscheidet sich unser Nährboden vor allem durch seinen Zweck: er soll im Gebrauche relativ große Mengen (100 bzw. 150 Proz.) des auf spezifische Keime zu untersuchenden Wassers aufnehmen. Deshalb stellt er gewissermaßen — er wird ja auch tatsächlich zum Gebrauche verflüssigt — eine Stammlösung dar, in der also alle wesentlichen Bestandteile entsprechend der vorzunehmenden Verdünnung erhöht sind. Im Gebrauch wird unser Nährboden mit 100 bzw. 150 Proz. Wasser „verdünnt“ und ergibt dann als tatsächlich zur Kultur dienendes Endprodukt die übliche 10-proz. Nährgelatine. Demgemäß ist auch die Züchtungstemperatur die für 10-proz. Nährgelatine übliche von etwa 22° C. Die früher angegebenen hochprozentigen Gelatinenährböden dagegen, z. B. die zur Beschleunigung der bakteriologischen Choleradiagnose von Elsner[1]) empfohlene 25-proz. Nährgelatine, sollten nur eine **Bebrütung bei höherer Temperatur** zum Zwecke einer **Wachstumsbeschleunigung** gestatten und damit in kürzerer Zeit eine bakteriologische Diagnose ermöglichen. Sie behielten also im Gebrauch ihren hohen Gelatinegehalt, auf dem ja die Möglichkeit, sie bei erhöhter Temperatur (bis 28° C) zu bebrüten, beruhte. Da ihre Fähigkeit, größere Wassermengen „aufzusaugen" und danach wieder zu festen Platten zu erstarren, gar nicht ausgenutzt werden sollte, ja gar nicht erwogen wurde, so lag auch kein Grund vor, in ihnen auch die Nährstoffe usw. zu erhöhen; es war also bei ihnen nur der Gelatinegehalt erhöht.

---

[1]) Elsner, Moritz, Untersuchungen zur Plattendiagnose des Choleravibrio. (Arch. f. Hyg. Bd. 21. 1894. S. 123—141.)

I. Hochprozentige (2- und 2½-fache) Nährgelatine.

Die entsprechend obigen Erwägungen angestellten Versuche führten ohne weiteres zum Ziel; nur stellte es sich heraus, daß eine Nährgelatine mit einem Gehalt von 30 Proz. Rohgelatine wegen der Erschwerung der Filtration sich schlecht herstellen ließ. Zweifache Nährgelatine (mit 20 Proz. Rohgelatinegehalt) und 2½-fache (mit 25 Proz. Gelatine) sind dagegen leicht herzustellen. Die Mischung dieser Nährböden mit den verhältnismäßig großen Wassermengen geht leicht von statten, es empfiehlt sich aber, den Nährboden auf etwa 40° C zu erwärmen, damit er nicht beim Vermischen mit dem vielen kühlen Wasser zu schnell erkaltet und ungleichmäßig erstarrt. Ist eine mäßig erwärmte Unterlage, bzw. ein etwa 35—37° warmer Raum (Brutschrank) zur Hand, so kann man bei den meisten Keimarten, ohne einen Schaden befürchten zu müssen, die Petri-Schalen zwecks besonders gleichmäßiger Durchmischung des Inhaltes nach dem Plattengießen auf einige Minuten daraufsetzen bzw. hineinstellen; die Platten fallen dann, wegen der besonders guten Vermischung von Wasser und Nährgelatine, stets sehr gleichmäßig aus. Allerdings ist es in diesem Falle besonders ratsam, die Mischung durch Verbringen der Schalen auf eine kühle Unterlage (Kühltisch) rasch zum Erstarren zu bringen, damit nicht eine Keimvermehrung vor dem Festwerden des Nährbodens eintritt.

Um sicher einen genügend hohen Schmelzpunkt der Nährgelatine zu erhalten, achte man auf eine gute Beschaffenheit der Rohgelatine[1]), zumal auf geringe Azidität derselben. Denn nach Migula[2]) (S. 254) wird ein aus sehr saurer Rohgelatine bereiteter Nährboden bei niedrigerer Temperatur flüssig, als ein aus weniger saurer hergestellter; dabei soll der spätere Alkaleszenzgrad, den man der Nährgelatine nach dem Neutralisieren gibt, ohne Einfluß sein. Auch wende man bei der Herstellung möglichst keine über 100° C hinausgehenden Dampftemperaturen an und beschränke die Kochdauer auf ein möglichst geringes Maß. Der Verflüssigungspunkt der Gelatine-Wassermischung lag bei meinen Versuchen sofort nach der Verdünnung der 2- bzw. 2½-fachen und Wiedererstarrung der nunmehr einfachen (10-proz.) Nährgelatine etwa bei 28,5 bis 29° C, nach 2-stündiger Aufbewahrung (bei 22° C) bei 29,5 und nach 2-tägiger Aufbewahrung bei 29,5—31,5° C, so daß der Nährboden in bezug auf den Schmelzpunkt allen Anforderungen genügen dürfte.

Hinsichtlich der Eignung dieses Gelatinenährbodens für die Bakterienzüchtung war von vornherein anzunehmen, daß er für alle Keimarten

---

[1]) Bei meinen Versuchen hat sich die der Deutschen Gelatinefabriken in Schweinfurt bewährt.

[2]) Migula, System der Bakterien. Bd. 1. Jena (Gustav Fischer) 1897.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

brauchbar sein würde, für welche die übliche 10-proz. Nährgelatine sich eignet; denn in eben diese 10-proz. Nährgelatine wird ja unser zunächst hochprozentiger Gelatinenährboden im Gebrauch umgewandelt. Züchtungsversuche, angestellt mit Staphylococcus albus, Bact. prodigiosum, Bact. violaceum, einer Reihe von Coli- und Typhus-Stämmen, Bact. paratyphi A und B, Bact. enteritidis Gärtner, den Erregern der Shiga-Kruse-Ruhr, Y-Ruhr und Flexner-Ruhr sowie dem Vibrio cholerae (vgl. Tabelle I) zeigten die Richtigkeit dieser Erwartung: Weder hinsichtlich der Keimzahl, noch der Wachstumserscheinungen (Größe, Farbstoffbildung u. dgl.) konnte bei irgendeiner der untersuchten Bakterienarten eine über die Grenze der Versuchsschwankungen hinausgehende Abweichung von dem Wachstum auf der zum Vergleich herangezogenen üblichen 10-proz. Nährgelatine gefunden werden. Bei der Verwendung für einen praktischen Zweck, Prüfung einer neuen Filterart auf Undurchlässigkeit für Bakterien, wozu Bact. prodigiosum verwandt wurde, bewährte sich die hochprozentige Nährgelatine neben den Müllerschen Gipsplatten und der üblichen 10-proz. Nährgelatine sehr gut; die Ergebnisse stimmten hinsichtlich der Keimzahl gut überein. Zwar hatte die Gipsplatte den Vorzug, daß alle Kolonien Oberflächenkolonien waren und deshalb wegen des ungehinderten Zutritts von Luftsauerstoff sämtlich besonders kräftige Farbstoffbildung

Tabelle I.
Nährgelatine: 2-fach und $2^1/_2$-fach.

Gelatinegehalt	10 %	20 %	25 %
Nährbodenmenge ccm	10	10	$6^2/_3$
Zugesetzte Flüssigkeitsmenge (Aufschwemmung)	1 ccm	10 ccm	10 ccm
Stämme	Zahl der Kolonien		
Staphylococcus albus	18	184	170
Bact. prodigiosum	13 2)	175 2)	151 2)
„ violaceum	28 2)	265 3)	300 3)
„ coli I	31	212	217
„ „ II	41	306	356
„ „ III	19	225	225
„ „ IV	48	294	341
„ „ V	23	353	396
Paratyphus A	20	157	162
„ B	23	226	233
Bact. enteritidis Gärtner	30	225	259

Gelatinegehalt	10 %	20 %	25 %
Nährbodenmenge ccm	10	10	$6^2/_3$
Zugesetzte Flüssigkeitsmenge	1 ccm	10 ccm	10 ccm
Aufschwemmung 1)	a	b	b
Stämme	Zahl der Kolonien		
Typhus I	193	182	157
„ II	130	108	126
„ III	194	187	202
„ IV	72	65	76
„ Washington	74	70	68
„ J. R. K.	77	82	68
„ Franz	79	73	89
„ Jakob	85	83	75
„ Henschke	115	100	80
„ Schalejeff	60	66	59
„ Samarkoff	113	114	120
„ Popow	113	127	94
Shiga-Kruse-Ruhr (K. G. A.)	40	43	45
Shiga-Kruse-Ruhr (Lott)	54	58	61
Y-Ruhr	40	48	40
Flexner-Ruhr	62	65	60
Cholera (Krakau 16)	57	39	56
„ (Spandau)	6	21	13

---

1) Aufschwemmung a war 10mal konzentrierter als Aufschwemmung b, so daß hinsichtlich der Zahl der eingesäten Bakterien 1 ccm a = 10 ccm b ist.

2) Farbstoffbildung gut.

3) Farbstoffbildung sehr gut.

zeigten, doch war dieselbe auch bei den Gelatineplatten völlig ausreichend zur Identifizierung, und zwar nicht nur bei den oberflächlichen, sondern auch bei den tiefgelegenen Kolonien. Daneben bot die eintretende Verflüssigung der Gelatine ein weiteres, nicht unwesentliches Merkmal für die Identifizierung der Prodigiosus-Kolonien.

Nach meinen bisherigen Erfahrungen dürfte sich die beschriebene hochprozentige, 2- bzw. $2^1/_2$-fache — im Gebrauch zu 10-proz. umzuwandelnde — Nährgelatine für die Züchtung aller auf der üblichen 10-proz. Nährgelatine gedeihenden Keimarten eignen; für bestimmte Bakterien etwa erforderliche oder für ihre Züchtung zweckdienliche besondere Zusätze zu machen, dürfte wohl kaum Schwierigkeiten bieten.

Hinsichtlich der in den Kulturschalen zu verarbeitenden Wassermengen ist zu sagen, daß die sich ergebende Schichtdicke bis zu 6 mm betragen darf; eine größere Schichtdicke empfiehlt sich nicht, weil dann einerseits die üblichen Schalen das zur guten Vermischung erforderliche ausgiebige Umschwenken nicht mehr gestatten und infolgedessen ein Teil des Wassers unter Umständen nicht aufgenommen wird, und weil anderseits die Erstarrung bei der Dicke der Schicht, trotz Kühltisches, gar zu lange dauern würde. Dagegen können natürlich geringere Schichtdicken bzw. Gelatinewassermengen verwandt werden. Für die wohl meist ausreichenden Petri-Schalen habe ich, je nach dem Zwecke, verschiedene Mengen angewandt: bei der 2-fachen Nährgelatine entweder 5 ccm Nährboden + 5 ccm Wasser (so daß sich dieselbe Schichtdicke ergab, wie bei der wohl meist angewandten Menge [10 ccm] der üblichen 10-proz. Nährgelatine) oder 10 + 10 oder endlich 15 + 15 ccm; bei der $2^1/_2$-fachen Nährgelatine 4 ccm Nährboden + 6 ccm Wasser oder 6,7 + 10 oder 10 + 15 oder endlich 13,3 + 20 ccm. Bei einer Schichthöhe von 6 mm faßt eine Petri-Schale von 9 cm Innendurchmesser 37,8 ccm, d. h. sie nimmt 15,1 ccm $2^1/_2$-facher Nährgelatine + 22,7 ccm Wasser auf; eine Schale von 15 cm Durchmesser faßt dabei 105 ccm, d. h. 42 ccm des Nährbodens + 63 ccm Wasser, und eine Drigalski-Schale von 20,6 cm Durchmesser nimmt dabei 200 ccm, also 80 ccm der Nährgelatine + 120 ccm Wasser auf. Wegen dieser in einer Kulturschale zur Untersuchung gelangenden, recht erheblichen Wassermenge eignet sich zumal der $2^1/_2$-fache Gelatinenährboden sehr gut für die Fälle, wo es gilt, in größeren Flüssigkeitsmengen vereinzelt vorkommende spezifische Keime zahlenmäßig nachzuweisen. Seine Anwendung empfiehlt sich also z. B. für die Feststellung des Erfolges bei Prüfung von Filtern oder von solchen Desinfektionsmitteln, die keine oder nur eine unwesentliche, über die Abtötung hinausgehende entwickelungshemmende Wirkung haben, also für die physikalischen Desinfektionsmethoden, wie Erhitzen und ultraviolette Strahlen, und einige chemische Mittel, wie Ozon und Chlor.

Vor der üblichen 10-proz. Nährgelatine hat die vorgeschlagene Methode für diese Zwecke, sobald die zu untersuchenden Wassermengen nennenswert größer sind als 1—2 ccm, den Vorzug, Zeit und Geld zu ersparen. Sollen z. B. 15 ccm eines Filtrates zahlenmäßig auf vereinzelt zu erwartende spezifische Keime untersucht werden, so müßte man bei Anwendung 10-proz. Nährgelatine etwa 10—15 Petri-Schalen mit je 1,5 bzw. 1 ccm des Filtrates und etwa je 10 ccm Nährgelatine beschicken, gebrauchte also 10—15 sterile Schalen und 150 bzw. 100 ccm einer 10-proz. Nährgelatine. Bei Anwendung $2^1/_2$-facher (25-proz.) Nährgelatine aber gebraucht man nur eine einzige Petri-Schale und von dem $2\frac{1}{2}$-fachen Gelatinenährboden nur 10 ccm, die an Materialien (also an Kosten) 25 ccm einer 10-proz. Nährgelatine entsprechen, in die sie ja auch tatsächlich durch Hinzufügen der 15 ccm Filtrat im Gebrauche umgewandelt werden. Der Verbrauch an Nährmaterial wäre demnach in diesem Falle um das 4—6-fache und die Aufwendung an Glasgeräten und damit an Arbeit um das 10—15-fache geringer als bei Verwendung der üblichen 10-proz. Nährgelatine.

Vor den Anreicherungsmethoden hat das geschilderte Verfahren gleichfalls wesentliche Vorteile: Zunächst gibt es genauen Aufschluß über die Zahl der im Filtrat vorhandenen, bzw. die Desinfektion überlebenden Bakterien, sodann verhütet es die Ueberwucherung einzelner Keime durch andere stärker wachsende Arten, deckt zufällige Verunreinigungen, z. B. durch Luftkeime, mit großer Wahrscheinlichkeit auf und erlaubt endlich, je nach den angewandten Testbakterien, sofort Rückschlüsse auf die Art der vorhandenen Keime durch die oft charakteristische Form der Kolonien, durch etwaige Farbstoffbildung, sowie durch Vorhandensein oder Fehlen von Gelatineverflüssigung. Für die Durchsuchung sehr großer Wassermengen würde seine ausschließliche Anwendung allerdings etwas teurer sein als die der meist ja sehr billigen Anreicherungsmethoden; doch dürfte auch dort die Möglichkeit meist erwünscht sein, neben den mit Anreicherungsmethoden zu untersuchenden Hauptflüssigkeitsmengen einen erheblichen Teil (bis 120 ccm in einer Drigalski-Schale) jeder einzelnen Probe mittels des hochprozentigen Gelatinenährbodens zu einer Zählplatte verarbeiten zu können. Der vielfach behauptete schärfere Ausschlag flüssiger Nährböden vor festen kommt nach meinen Erfahrungen nur für Desinfektionsversuche in Betracht, und zwar besonders für die mit solchen Mitteln angestellten, deren wirksames Agens sich nicht durch Zugabe besonderer Gegenmittel neutralisieren läßt, bzw. die — wie insbesondere das Sublimat — über die abtötende Wirkung hinaus die Entwickelung der lebend gebliebenen Keime zum Teil oder ganz hemmen. Für nicht entwickelungshemmende und dabei leicht zu neutralisierende Desinfizientien dagegen, wie z. B. das Chlor, steht nach meinen zahlreichen Versuchen der Gelatinenährboden hinsichtlich Empfindlichkeit den Nährlösungen (Nährbouillon bzw. Traubenzucker-Peptonlösung nach Eijkman) für die Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe keineswegs nach.

Vor den Müllerschen Gipsplatten hat die Anwendung des hochprozentigen (2- bzw. $2\frac{1}{2}$-fachen) Gelatinenährbodens den Vorzug, sichere Gewähr zu bieten, daß jeder einzelne entwickelungsfähig eingebrachte, auf Nährgelatine überhaupt gedeihende Keim auch wirklich sich zu einer sichtbaren Kolonie entwickeln kann, für alle Keimarten anwendbar und erheblich billiger zu sein. Dagegen hat die Gipsplatte den Vorzug geringerer Empfindlichkeit gegenüber verunreinigenden, verflüssigenden Keimen, und für den Prodigiosus-Nachweis insbesondere den einer besseren Farbstoffbildung der Kolonie. Nicht zu keimreiche Wässer sind wohl für beide Verfahren in gleicher Weise Voraussetzung. Hinsichtlich des Verdunstungsverfahrens verweise ich auf die oben (S. 462 u. 463) gemachten Ausführungen und Teil II dieser Arbeit.

Was den naturgemäß auftauchenden Gedanken angeht, analog den hochprozentigen Gelatinenährböden auch konzentrierte, im Gebrauch Wasser aufsaugende Agar-Nährböden herzustellen, so haben dahin gehende Versuche kein befriedigendes Ergebnis gezeitigt: einerseits stört in vieler

Hinsicht der für diese Zwecke sehr hoch liegende Erstarrungspunkt flüssigen Agars, der manchen Keimarten geradezu unzuträglich sein dürfte, sodann ist die zu der notwendigen restlosen Aufsaugung irgendwie erheblicherer Wassermengen unbedingt erforderliche innige Vermischung von Wasser und Agar wegen zu rascher Erstarrung des Agars bei Berührung mit dem erheblich kühleren Wasser nicht mit genügender Sicherheit zu erzielen; auch stört das sich bildende Kondenswasser insofern, als nicht sämtliche Keime zu isolierten Kolonien auswachsen.

II. Gelatinespezialnährböden.

Bei Desinfektions- und Filterversuchen wird es für manche Keimarten erwünscht sein, die Nährgelatine zu einem Spezialnährboden umzuwandeln, und zwar insbesondere für diejenigen Bakterien, deren Kolonien auf der gewöhnlichen Nähr-Gelatineplatte kein durch sinnfällige Merkmale deutlich gekennzeichnetes und leicht erkennbares Aussehen haben, während sie auf besonders zusammengesetzten Spezialnährböden leicht kenntlich sind, also vor allem für die Erreger der infektiösen Darmkrankheiten und das Bact. coli. Diese Bakterien werden vielfach, insbesondere bei Mitteln bzw. Verfahren, die zur Desinfektion von Wasser und Abwasser dienen sollen, als Testkeime verwandt. Für ihren qualitativen Nachweis in Dejekten und dergleichen ist eine ganze Reihe von Agarspezialnährböden angegeben. Entsprechend diesen Nährböden, stellte ich verschiedene Gelatinenährböden her; dabei schied ich den Endoschen Natriumsulfit-Fuchsin-Nährboden zunächst aus, da er beim Aufbewahren unter dem Einfluß von Luft und Licht bald an Güte verliert. Bei der Besäung zeigte es sich jedoch, daß keiner der geprüften Nährböden, als Gelatinenährboden hergestellt, den Bakterien der Typhus-, Coli- und Ruhr-Gruppe ein durch eine deutliche Farbenreaktion oder sonst irgendwie gut charakterisiertes Aussehen gab. Weder der zuckerfreie Loefflersche[1]) Malachitgrün-Safranin-Reinblaunährboden, noch die Milchzucker als wesentlichen Bestandteil enthaltenden Nährböden, mochten sie nun als Farbstoff Lackmus nach Wurtz[2]) bzw. v. Drigalski-Conradi[3]), Säurefuchsin nach Romond[4]), bzw. nach E. und A. Kindborg[5]) oder E. Kindborg[6]), Chinablau nach Bitter[7]), oder endlich durch Natriumsulfit reduziertes Malachitgrün nach Padlewski[8]) enthalten, erwiesen sich als für den vorliegenden Zweck ge-

---

1) Loeffler, F. (in Gemeinschaft mit E. Walter, E. Dibbelt und J. Wehrlin), Ein neues Verfahren zum Nachweise und zur Differentialdiagnose der Typhusbakterien mittels Malachitgrün-Safranin-Reinblau-Nährböden. (Deutsch. med. Wochenschrift. Jahrg. 35. 1909. S. 1297—1301.)

2) Wurtz, Arch. de méd. expér. etc. 1892. p. 85, 383; zit. nach Kutscher, Handbuch v. Kolle-Wassermann. Bd. 3. S. 740.

3) v. Drigalski u. Conradi, Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbazillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902. S. 283–300.)

4) Romond, Compt. rend. Soc. biol. 1896. p. 883 (zit. nach Kutscher).

5) Kindborg, Erich, u. Kindborg, Amy, Ueber eine neue Farbenreaktion zur Erkennung des Typhusbacillus und verwandter Arten im Plattenausstrich. (Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. S. 554—567.)

6) Kindborg, E., Verbesserter Säurefuchsinagar zur Typhus- und Ruhr-Diagnose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1916. S. 442—446.)

7) Bitter, Ein neuer Typhusnährboden. Vortrag.(Ref. München. med. Wochenschrift. Jahrg. 58. 1911. S. 709/10.)

8) Padlewski, L., a) Eine neue Anwendungsmethode des Malachitgrünagars zum Nachweis von Bazillen der Typhusgruppe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. S. 540—544.) b) Bemerkung zu der Arbeit von Dr. F. Grimm. (Hyg. Rundsch. Jahrg. 19. 1909. S. 1388/89.)

eignet. Es mußte deshalb auf die Verwendung des Milchzuckers im Nährboden und damit auf ein sehr wesentliches Unterscheidungsmerkmal zwischen Bact. coli und den pathogenen Bakterien der Typhus- und Ruhr-Gruppe, die Fähigkeit der Säurebildung aus Milchzucker, verzichtet werden. Dies war übrigens für unsere Zwecke nicht von Belang, da es sich ja nicht, wie bei Stuhluntersuchungen, darum handelte, unter einer Ueberzahl von Coli-Bazillen und der verschiedensten sonstigen Begleitbakterien verhältnismäßig wenig zahlreiche pathogene Keime auffindbar zu machen, sondern darum, die Kolonien der aus einer bestimmten Reinkultur bei der Desinfektion und Filtration übrigbleibenden Testkeime zum Zweck der Zählung deutlich kenntlich zu machen gegenüber den Kolonien der sehr schwer ganz zu vermeidenden Verunreinigungskeime. Es wurden also dem Gelatinenährboden andere Zuckerarten (Trauben-, Malz- und Rohrzucker) sowie Mannit zugesetzt und als Farbstoffe Lackmus, Chinablau und Säurefuchsin verwandt. Auch in dieser Zusammensetzung erwiesen sich die mit den genannten Farbstoffen versetzten Gelatinenährböden als für die Typhus-, Coli- und Ruhr-Gruppe nicht gut geeignet. Somit blieb von den Typhus-Spezialnährböden nur der zuerst wegen seiner Lichtempfindlichkeit übergangene Endosche[1]) Milchzucker-Fuchsin-Natriumsulfitnährboden übrig. Dieser Nährboden, vom Autor für die Züchtung der Typhusbazillen aus dem Stuhl angegeben und viel gebraucht, verleiht das am meisten charakteristische Aussehen nicht den Typhus-, sondern den Coli-Kolonien: jene dunkelrote Färbung im durchfallenden Lichte und den wohlbekannten, goldig oder messingartig glänzenden, gelbgrünen Fuchsinschimmer, der im schrägauffallenden Lichte besonders deutlich ist. Endo-Agar dürfte deshalb für die praktische Identifizierung des typischen Bact. coli unstreitig der geeignetste Nährboden sein. Aller Wahrscheinlichkeit nach mußte ein entsprechend hergestellter Gelatinenährboden den Kolonien des Bact. coli ein ähnlich gut charakterisiertes Aussehen verleihen. Ich stellte also analog dem Endo-Agar [Klingerscher[2]) Vorschrift] einen Milchzucker-Fuchsin-Natriumsulfit-Gelatinenährboden her, und zwar zunächst einen solchen mit 10 Proz. Gelatinegehalt. Derselbe ist klar, durchsichtig, im flüssigen, heißen Zustande kräftig rosafarbig bis kirschrot, also stärker gefärbt als entsprechend hergestellter Endo-Agar, sonst verhält er sich ganz ähnlich wie dieser: In Schalen ausgegossen, wird der frisch hergestellte Nährboden nach dem Erkalten in dünner Schicht fast farblos bis blaß-rosafarbig; beim Aufbewahren wird er unter der Einwirkung der Luft und zumal des Lichtes allmählich kräftig rosarot. Es empfiehlt sich, den Nährboden erst kurz vor dem Verbrauch fertig herzustellen (vgl. Herstellungsvorschrift S. 478).

In und auf diesem Milchzucker-Fuchsin-Natriumsulfit-Gelatinenährboden gedeiht Bact. coli vorzüglich. Nach zweitägiger Bebrütung bei 22° C weisen tiefliegende Coli-Kolonien einen Durchmesser von 0,3 bis 0,5 mm auf, sind also etwa ebenso groß wie gleichalte Kolonien auf der üblichen Nährgelatine. Bei längerer Bebrütung werden sie erheblich größer als gleichalte Nährgelatinekolonien, so daß sie nach 4—5-tägiger Bebrütung etwa 2—3mal größer sind. Dieses verstärkte Wachstum dürfte wohl auf den Zuckergehalt der Fuchsin-Gelatine zurückzuführen sein. Das Aussehen der Coli-Kolonien auf dem Fuchsin-Gelatinenährboden ist äußerst charakteristisch (vgl. Taf. I, Fig. a u. c, und Taf. II, Fig. 1). Im durchfallenden Lichte haben bereits nach 2 Tagen die Coli-Kolonien einen kräftig kirschroten, nach 3 Tagen einen dunkelroten Farbton; umgeben sind sie von einem etwas helleren, aber deutlich sichtbaren, 0,5—1½ mm breiten Hof, so daß die Kolonien sich scharf abheben von dem umgebenden, während der Bebrütung inzwischen leicht rosafarbig gewordenen Nährboden. Oberflächenkolonien zeigen ein ähnliches Aussehen, sind im allgemeinen erheblich größer, zuweilen kreisrund, meist mit wellig begrenztem oder gezacktem Rande; bei längerer Bebrütung breiten sie sich zum Teil flächenhaft aus bis zu etwa 1 cm Durchmesser. Bei sehr langer Bebrütung bilden manchmal die an die Oberfläche anstoßenden Kolonien kugelige oder zapfenförmige Vorsprünge, die bis zu 3 mm über die Plattenoberfläche herausragen und ein eigenartiges Bild bieten. Im auffallenden Lichte zeigen nach zweitägiger Bebrütung ein Teil, nach 3—4 Tagen alle, sowohl die tief, wie die oberflächlich gelegenen Coli-Kolonien einen kräftigen messingartig, bzw. goldig glänzenden, gelbgrünen Metallschimmer, ganz ähnlich wie typische Coli-Kolonien auf Endo-Agar. Dieser Glanz ist oft, besonders bei hoher Gelatineschicht, auf der Unterseite der Platte am deutlichsten ausgeprägt bzw. am besten sichtbar. Er ist, im Gegensatz zu dem Fuchsinglanz der Coli-Oberflächenkolonien auf Endo-Agar, der oft schon nach 2 × 24 Stunden undeutlich geworden oder ganz geschwunden ist, sehr beständig, so daß er auch noch bei 4 Wochen lang aufbewahrten Plattenkulturen deutlich sichtbar ist; allerdings nimmt bei sehr langem Aufbewahren der Platten vielfach die ganze Nährbodenoberfläche einen gewissen Fuchsinschimmer an. Eine ganze Reihe typischer Coli-Stämme wurde von mir in Milchzucker-Fuchsin-Gelatine zu Platten ausgesät; durchweg alle typischen Coli-Stämme zeigten das geschilderte charakteristische Aussehen der Kolonien in gleicher Weise, so daß der beschriebene Nährboden sich für die Züchtung aller typischen Coli-Stämme gut eignen dürfte. Zur zahlenmäßigen Bestimmung von Coli-Kolonien ist er vorzüglich geeignet. Wie zahlreiche Parallelzählungen mit Nährgelatine ergaben, decken sich die auf beiden Nährböden bei gleicher Aussaat erhaltenen Keimzahlen recht gut (vgl. Tabelle II).

---

[1]) Endo, S., Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbazillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904. S. 109—110.)

[2]) Klinger, Ueber neuere Methoden zum Nachweis des Typhusbacillus in den Darmentleerungen. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amt. Bd. 24. 1906. S. 35—53.)

Tabelle II.
Fuchsin-Gelatine mit Milchzucker: 1-fach.

Nährbodenart	Aussaat	Zahl der Kolonien						
Nährgelatine: 1-fach	je 1 ccm Coli-Aufschwemmung	70	130	45	44	40	33	45
Milchzucker - Fuchsin - Gelatine: 1-fach		71	120	42	43	46	41	52

Es wurden nunmehr auch zwei- und zweieinhalbfache Milchzucker-Fuchsin-Gelatinenährböden hergestellt (mit 20 und 25 Proz. Gelatinegehalt) und mit entsprechender Erhöhung aller übrigen Zusätze, gemäß den oben S. 464 angeführten Gesichtspunkten. Es zeigte sich, daß auch auf diesen Nährböden, die ja im Gebrauche durch Zusatz einer entsprechenden Flüssigkeitsmenge zu dem eben besprochenen einfachen, 10 Proz. Gelatine enthaltenden Milchzucker-Fuchsinnährboden umgewandelt werden, das Bact. coli vorzüglich gedieh, und daß seine Kolonien darauf dasselbe charakteristische Aussehen aufwiesen, wie auf dem von vornherein 10-proz. hergestellten Nährboden. Ebenso erwies die hochprozentige Fuchsin-Gelatine sich als zur zahlenmäßigen Bestimmung von Bact. coli gleich gut geeignet (vgl. Tabelle III).

Tabelle III.
Fuchsin-Gelatine mit Milchzucker: 1-fach und $2^1/_2$-fach.

Nährbodenart	Aussaat	Zahl der Kolonien des Coli-Stammes				
		I	II	III	IV	V
Nährgelatine: 1-fach	1 ccm Aufschwemmung	31	41	19	48	23
Milchzucker - Fuchsin - Gelatine: 1-fach	dgl.	28	42	23	33	34
Milchzucker - Fuchsin - Gelatine: $2^1/_2$-fach	10 ccm Aufschwemmung	211	241	211	384	335

Praktisch angewandt wurde dieser Nährboden von mir bei Chlordesinfektionsversuchen [1]) mit Bact. coli als Testbakterium während $^3/_4$ Jahr; er bewährte sich dabei sehr gut und leistete mir vorzügliche Dienste, indem er gestattete, verhältnismäßig große Flüssigkeitsmengen auf das Vorhandensein von Bact. coli zu prüfen und dabei die eingetretene Verminderung der Coli-Keime, wegen des äußerst charakteristischen Aussehens der Coli-Kolonien, bequem und zuverlässig zahlenmäßig festzustellen. Ich kann deshalb für ähnliche Zwecke seine Anwendung warm empfehlen. Außer durch Bact. coli wird der Nährboden zwar noch durch einzelne andere Bakterien gerötet, doch fehlt denselben im allgemeinen — den nicht verflüssigenden anscheinend durchweg — die Fuchsinglanzbildung, so daß die Unterscheidung meist leicht ist. Die meisten Keime bilden übrigens von dem Aussehen der Coli-Kolonien ohne weiteres deutlich verschiedene Kolonien (vgl. Taf. I, Fig. c).

Hinsichtlich des Wachstums der pathogenen Keime der Typhus- und Ruhr-Gruppe in der beschriebenen ein-, zwei- und zweieinhalbfachen Milchzucker-Fuchsin-Gelatine war, da sie sämtlich Milchzucker nicht unter Säurebildung zu spalten vermögen, von vornherein anzunehmen, daß sie keine Rötung und Fuchsinglanzbildung hervorrufen würden. Dies traf für die meisten Glieder dieser Gruppe teilweise zu: Die Erreger des Paratyphus A und B, der Enteritis Gärtner, der Shiga-Kruse-, Y- und Flexner-Ruhr, sowie der Cholera, riefen zwar mäßige Rötung, jedoch keinen Fuchsinglanz hervor. Dagegen zeigte es sich merkwürdigerweise, daß Typhus-Bazillen, und zwar sämtliche von mir geprüften Stämme, in der Milchzucker-Fuchsin-Gelatine sowohl Rötung wie Fuchsinglanz bewirkten [1]). (Hierauf werde ich weiter unten noch näher eingehen.) Trotz dieses charakteristischen Aussehens der Kolonien erschien Milchzucker-Fuchsin-Gelatine als für Typhusbazillen nicht gut geeignet, insofern als die Kolonien ziemlich langsam wuchsen, nur mäßige Größe erreichten und einen ausgesprochenen Fuchsinglanz erst nach 4—6 Tagen aufwiesen. Dagegen zeigte sich Fuchsin-Gelatine mit Zusatz von 1 Proz. Mannit oder Traubenzucker als für Typhusbazillen sehr brauchbar, indem sie ihren Kolonien bei üppigem Wachstum ein durch deutliche Rötung und starken Fuchsinglanz der Kolonien und Bildung eines roten Hofes um dieselben sehr gut charakterisiertes Aussehen gab. Dieses entsprach, abgesehen von der geringeren Größe (vgl. Taf. I, Fig. e, und Taf. II, Fig. 4 u. 6), fast genau dem oben S. 471 für Coli-Kolonien auf Milchzucker-Fuchsin-Gelatine geschilderten. Auf der Mannit- bzw. Traubenzucker-Fuchsin-Gelatine werden bei mehr als dreitägiger Bebrütung Typhuskolonien in gleicher Zeit etwa doppelt so groß als auf Milchzucker-Fuchsin-Gelatine und dreifach größer als auf Nährgelatine; die Rotfärbung der Kolonien und die Bildung des roten Hofes um dieselben ist bereits nach zwei- bis dreitägiger Bebrütung bei 22° C, der Fuchsinglanz nach 3—4 Tagen deutlich sichtbar. Coli-Bazillen haben auf ihr etwa das gleiche Aussehen wie auf der Milchzucker-Fuchsin-Gelatine, so daß also Coli- und Typhus-Kolonien auf ihr nur durch die geringere Größe der letzteren unterschieden sind. Auch für die Erreger des Paratyphus A (Taf. III, Fig. 9) und des Paratyphus B (Taf. III, Fig. 10), der Enteritis Gärtner (Fig. 11) und der Flexner-Ruhr (Fig. 12) eignet sich die Natriumsulfit-Fuchsin-Gelatine mit Zusatz von 1 Proz. Mannit oder Traubenzucker sehr gut, für die Erreger der Y-Ruhr ist Mannitzusatz wegen mangelhafter Fuchsinglanzbildung nicht ganz so gut, für die der Shiga-Kruse-Ruhr (Fig. 13) schlecht brauchbar. Traubenzuckerzusatz dagegen gibt den Kolonien aller 3 genannten Ruhrarten ein wiederum durch Rötung und Fuchsinglanz gut charakterisiertes Aussehen (vgl. Fig. 14 u. 15). Für die Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe ist auch Glyzerinzusatz geeignet. Die Kolonien all dieser Krankheitserreger sind den von B. coli auf Milchzucker-Fuchsin-Gelatine ge-

---

[1]) Weldert u. Bürger, Beiträge zur Anwendung des Chlors bei der Desinfektion von Wasser und Abwasser. (Hyg. Rundsch. Jg. 27. 1917. No. 1, 2, 3.)

Tabelle IV.

Fuchsin-Gelatine mit Mannit oder Traubenzucker: 1-fach.
(Aussaat: je 1 ccm Aufschwemmung.)

Bakterienstamm	Zahl der Kolonien auf		Bakterienstamm	Zahl der Kolonien auf	
	Nährgelatine	Fuchsin-Gelatine mit Milchzucker		Nährgelatine	Fuchsin-Gelatine mit Milchzucker
Typhus I.	86	88	Typhus Schalejeff	39	42
„ II.	61	54	„ Samarkoff	89	107
„ III.	35	35	„ Popow	56	55
„ IV.	13	6	Paratyphus A	20	13
„ V.	18	36	„ B	23	42
„ VI.	26	33	Enteritis Gärtner	120	113
„ Washington	78	73	Y-Ruhr	33	33
„ J. R. K.	68	72	Flexner-Ruhr	64	56
„ K. G. A.	29	30			
„ Piehl	48	47		Nährgelatine	Fuchsin-Gelatine mit Traubenzuck.
„ Franz	50	60			
„ Jakob	58	66			
„ Heuschke	60	64			
			Shiga-Kruse-Ruhr (K. G. A.)	64	60
			Shiga-Kruse-Ruhr (Lott)	36	30
			Y-Ruhr	41	37
			Flexner-Ruhr	76	98

---

[1] In letzter Zeit trat die Fuchsinglanzbildung der Typhuskolonien auf Milchzucker-Fuchsin-Gelatine nicht mehr so regelmäßig und kräftig auf; vgl. Taf. I, Fig. d. Bei der betreffenden Platte war der Fuchsinglanz an der Oberfläche nicht vorhanden, dagegen an der Unterfläche, d. h. am Boden der Petri-Schale deutlich sichtbar.

bildeten sehr ähnlich, jedoch meist etwas kleiner. Zu Zählungen ist der Nährboden für sie gut geeignet (vgl. Tabelle IV). Choleravibrionen bewirken Rötung und Fuchsinglanzbildung der Kolonien (bei nur ganz geringer, ja teilweise eben angedeuteter Gelatineverflüssigung) bei Zusatz von 1 Proz. Rohrzucker zu der Fuchsin-Gelatine (Fig. 16),

Die Herstellung zweifacher bezw. $2^{1}/_{2}$-facher Nährböden und ihre Anwendung zur zahlenmäßigen Bestimmung vereinzelter pathogener Keime in relativ großen Flüssigkeitsmengen bot ebensowenig Schwierigkeiten, wie bei der zweifachen bzw. zweieinhalbfachen Milchzucker-Fuchsin-Gelatine. Vergleichende Keimzählungen fielen gleichfalls befriedigend aus (vgl. Tabelle V). Die mäßigen Unterschiede in der Keimzahl sind zumal in Anbetracht der teilweise für eine Petri-Schale etwas hoch ausgefallenen Zahl der Kolonien als Versuchsschwankungen aufzufassen.

Tabelle V.
Fuchsin-Gelatine mit Mannit: 1-fach und $2^{1}/_{2}$-fach.

Nährbodenart	Aussaat	Zahl der Kolonien des Bakterienstammes						
		Typhus		Paratyphus		Enteritis Gärtner	Y-Ruhr	Flexner-Ruhr
		No. I	Washington	A	B			
Nährgelatine: 1-fach	1 ccm Aufschwemmung	36	37	20	23	30	40	62
Mannit-Fuchsin-Gelatine: 1-fach	dgl.	32	25	16	32	24	38	64
Mannit-Fuchsin-Gelatine: $2^{1}/_{2}$-fach	10 ccm Aufschwemmung	247	230	171	283	183	430	510

Wie oben (S. 472 u. 473) erwähnt, riefen auf der Milchzucker-Fuchsin-Gelatine sämtliche von mir geprüften (17) Typhusstämme Rötung und Fuchsinglanz hervor. Diese Stämme waren zum Teil hinsichtlich ihrer Gewinnung mir nicht näher bekannte Laboratoriumsstämme, darunter 7 zur Herstellung von Typhusimpfstoff benutzte, zum Teil Stämme, die ich 1914/15 aus Stuhl oder Blut von Typhuskranken gezüchtet hatte. Alle waren typische Stämme, die sämtliche für Typhusbazillen charakteristische Reaktionen aufwiesen. Die beobachtete Rötung und Fuchsinglanzbildung in der Milchzucker-Fuchsin-Gelatine durch die Typhuskolonien konnten entweder auf Säurebildung beruhen, oder zurückzuführen sein auf die Entstehung anderer, den Nährboden entsprechend verfärbender Stoffe. Eine Säurebildung hätte, da dem Nährboden kein für Typhusbazillen angreifbarer Zucker, sondern nur Milchzucker zugesetzt war, verursacht sein können durch das unbeabsichtigte Vorhandensein eines für Typhusbazillen unter Säurebildung spaltbaren Stoffes. Dieser hätte z. B. aus dem zur Herstellung des Nährbodens benutzten Liebigschen Fleischextrakte stammen können; erfahrungsgemäß sind ja Fleischextrakte vielfach nicht ganz zuckerfrei[1]). Es wurde deshalb eine Nährbouillon bereitet aus dem für die Milchzucker-Fuchsin-Gelatine benutzten Fleischextrakt und Pepton-Witte und dieselbe mit B. typhi und B. coli in Gärröhrchen beimpft und bei 37° C mehrere Tage bebrütet; dabei ließ sich weder ein für Typhusbazillen, noch ein für B. coli unter Gas- oder Säurebildung angreifbarer Zucker in der Nährbouillon nachweisen. Demnach konnte die in der Milchzucker-Fuchsin-Gelatine durch die Typhusbazillen bewirkte Verfärbung nicht durch das Vorhandensein irgendwelcher aus dem Fleischextrakt oder Pepton stammender Zuckerarten verursacht sein. Es blieb noch die Möglichkeit, daß der für den Nährboden verwandte Milchzucker mit derartigen Zuckern verunreinigt gewesen wäre. Derselbe war von Kahlbaum bezogener, gepulverter „Milchzucker D. A. B. 5“. Nach den Anforderungen des Deutschen Arzneibuches unzulässige Verunreinigungen konnte ich darin nicht nachweisen. Auch biochemisch erwies er sich als rein, insofern damit bereitete 1-proz. Milchzuckerbouillon bei der Besäung mit Typhusbazillen und zur Kontrolle mit B. coli bei mehrtägiger Bebrütung in Gärröhrchen normale Reaktionen ergab. Demnach war bewiesen, daß die durch die Typhusbazillen bewirkte Verfärbung der Milchzucker-Fuchsin-Gelatine nicht auf dem ungewollten Vorhandensein verunreinigender Zuckerarten bzw. anderer für Typhusbazillen unter Säurebildung angreifbarer Stoffe beruhte.

---

[1]) Vgl. Abel, Rudolf, Bakteriologisches Taschenbuch. 16. Aufl. Würzburg (C. Kabitzsch). 1912. S. 31.

Es stieg nun der Verdacht auf, daß die beobachtete Rötung und Fuchsinglanzbildung darauf zurückzuführen sei, daß in der Milchzucker-Fuchsin-Gelatine Typhusbazillen, entgegen der üblichen Annahme[1]), Milchzucker unter Säurebildung spalten könnten. Um darüber Aufschluß zu schaffen, wurde nebeneinander einerseits Milchzucker-Fuchsin-Gelatine, anderseits Fuchsin-Gelatine mit Fortlassung je eines der zur Herstellung verwandten in Betracht kommenden Stoffe (Pepton, Liebigs Fleischextrakt und Milchzucker) in Petri-Schalen mit Typhusbazillen besät; zur Kontrolle wurde die milchzuckerfreie Fuchsin-Gelatine mit Bact. coli beimpft.

Tabelle VI.
Aussehen der Kolonien auf:

Bakterienstamm	Bebrütet bei 22° C Tage:	Milchzucker-Fuchsin-Gelatine mit allen Zusätzen		Milchzucker-Fuchsin-Gelatine ohne Pepton			Milchzucker-Fuchsin-Gelatine ohne Liebigs Fleischextrakt			Fuchsin-Gelatine ohne Milchzucker		
		Rötung	Fuchsinglanz	Größe	Rötung	Fuchsinglanz	Größe	Rötung	Fuchsinglanz	Größe	Rötung	Fuchsinglanz
Typhus I	3	+	—		—	—		—	—		+	—
	6	++	++	≪	+	—	≪	+	—	≦	++	+
Typhus Washington	3	++	teils + „ —		++	teils + „ —		+	—		++	meist +
	6	++	++	≪	++	++	≪	++	teils + „ —	≦	++	++
Typhus Franz	3	++	teils + „ —		—	—		—	—		+	—
	6	++	++	≪	+	—	≪	+	—	≦	++	++
B. coli	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	—	—
	6	.	.	.	.	.	.	.	.	.	—	—

Erklärung: + = schwach positiv, ++ = stark positiv, < = kleiner als die Kolonien auf der Milchzucker-Fuchsin-Gelatine, ≪ = viel kleiner als die Kolonien auf der Milchzucker-Fuchsin-Gelatine, ≦ = etwas kleiner als die Kolonien auf der Milchzucker-Fuchsin-Gelatine und zum Teil gleich groß.

---

[1]) Vgl. z. B. Kutscher, K. H., Abdominaltyphus. (Handb. d. path. Mikroorganism. von Kolle u. Wassermann. 2. Aufl. Jena. (Gust. Fischer). 1913. Bd. 3. S. 724.

Die Ergebnisse zeigt Tabelle VI. Daraus ergibt sich, in Bestätigung der oben erwähnten Prüfung des verwandten Milchzuckers, zunächst, daß die durch die Typhusbazillen bewirkte Rötung und Fuchsinglanzbildung nicht beruht auf einer durch die Typhusbazillen bewirkten Spaltung des Milchzuckers oder den Milchzucker verunreinigender Stoffe; denn sie tritt auch beim Fehlen des Milchzuckers ein, und zwar bei allen 3 hier geprüften Typhusstämmen in fast genau gleicher Stärke wie beim Vorhandensein des Milchzuckers. Weiterhin bestätigt der Ausfall das Ergebnis der auf S. 474 beschriebenen Prüfung der Nährbouillon, wonach die Verfärbung der Milchzucker-Fuchsin-Gelatine durch die Typhusbazillen nicht auf verunreinigenden, dem Fleischextrakt oder dem Pepton entstammenden Zuckerarten beruhen kann. Wären nämlich solche Zuckerarten vorhanden oder entständen sie während der Bebrütung etwa infolge des Bakterienwachstums aus einem der zur Herstellung des Nährbodens verwandten Stoffe, so müßten sie nach den allgemeinen Erfahrungen auch von dem Bact. coli gespalten werden; es müßten also auch die Coli-Kolonien auf der milchzuckerfreien Fuchsin-Gelatine Rötung und Fuchsinglanzbildung gezeigt haben; dies war jedoch, wie die Tabelle zeigt, nicht der Fall. Wären anderweitige aus dem Fleischextrakt, bzw. Pepton stammende Stoffe die Ursache von Rötung und Fuchsinglanzbildung, so müßte beim Fehlen von Pepton, bzw. Fleischextrakt bei allen Typhusstämmen Rötung und Fuchsinglanzbildung ausbleiben. Dies trat aber nicht ein, vielmehr bewirkte ein Stamm (Washington) auch beim Fortlassen eines der beiden Stoffe stets sowohl Rötung wie Fuchsinglanzbildung. Daß auch bei diesem Stamme der Fuchsinglanz beim Fehlen des Fleischextraktes geringer war als beim Vorhandensein, und daß die Fuchsinglanzbildung bei den beiden anderen Typhusstämmen (No. I und Franz) beim Fehlen von Pepton oder Fleischextrakt gar nicht auftrat, möchte ich auf die Schädigung der allgemeinen Lebensbedingungen zurückführen, die für Typhusbazillen beim Fortlassen eines jeden der beiden wichtigen Stoffe eintritt.

Meines Erachtens beruht die durch Typhusbazillen in der zuckerfreien Fuchsin-Gelatine bewirkte Rötung und Fuchsinglanzbildung auf besonderen Stoffwechselprodukten der Typhusbazillen, die Bact. coli unter diesen Verhältnissen nicht bilden kann. Ob hierbei — was mir nicht gerade wahrscheinlich ist — Säurebildung die Ursache von Rötung und Fuchsinglanzbildung ist, indem sie, wie Endo[1]) für den milchzuckerhaltigen Fuchsinagar angab, die Farbe des durch Natriumsulfit zur farblosen Leukobase reduzierten Fuchsins wiederherstellt, oder ob, wie Aronson[2]) für den gleichen Nährboden annimmt, ein entstehender Aldehyd die durch Natriumsulfitzusatz aus dem Fuchsin gebildete, farblose fuchsinschweflige Säure wieder in einen roten Farbstoff überführt, oder ob ein noch anderer Chemismus hier vorliegt, konnte ich bisher nicht entscheiden. Die von Fürntratt[3]) versuchte Erklärung für die bei seinen Versuchen zuweilen eingetretene Rotfärbung von Typhus-Kolonien auf Endo-Agar ist meines Erachtens für unseren Fall nicht anwendbar. Fürntratt hatte beobachtet, daß Rotfärbung von Typhuskolonien und des sie umgebenden Närbodens manch-

---

1) Endo, s. Anmerk. 1. S. 470.

2) Aronson, Hans, Eine neue Methode der bakteriologischen Choleradiagnose. (Deutsch. med. Wochenschr. Jahrg. 41. 1915. S. 1027.)

3) Fürntratt, Karl, Ueber einige Eigenschaften des Endoschen Fuchsin-Agars. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. S. 487—493.)

mal dann eintrat, wenn auf Endo-Agar ein Gemisch von Typhus- und Coli-Keimen ausgesät war. Er suchte dies damit zu erklären, daß unter dem Einfluß der Coli-Säuerung und der Brutschranktemperatur aus dem vorhandenen Milchzucker (Disaccharid!) durch hydrolytische Spaltung in zwei Monosaccharide sich Traubenzucker und Galaktose bildeten. Der so entstandene Traubenzucker werde dann durch die Typhusbazillen unter Säurebildung gespalten. Ob diese Erklärung für die von Fürntratt beobachteten Erscheinungen richtig ist, will ich dahingestellt sein lassen. Für unseren Fall kann sie aus verschiedenen Gründen nicht zur Erklärung für die eingetretene Rötung und Fuchsinglanzbildung herangezogen werden und zwar zunächst deshalb, weil hier beides auftrat bei Typhus-Reinkulturen, wo also nicht — wie bei Fürntratt in dem Bact. coli — eine Keimart vorhanden war, die aus dem Milchzucker die nach Fürntratt zu der genannten hydrolytischen Milchzuckerspaltung erforderliche Säure hätte bilden können. Außerdem spräche gegen einen derartigen Erklärungsversuch die Beobachtung, daß auch bei Fortlassen des Milchzuckers und — wie die oben angeführten Prüfungen ergaben — beim Fehlen jeglichen Zuckers im Nährboden die Typhuskolonien Rötung und Fuchsinglanzbildung in meist ungeminderter Stärke zeigten. Woraus hätte da Traubenzucker sich bilden sollen? Obendrein müßte Traubenzucker, wenn er durch das Wachstum von Typhusbazillen gebildet würde, wohl auch durch Coli-Wachstum zunächst gebildet und dann von den Coli-Bazillen unter Säurebildung gespalten werden. Es hätten also dann die auf der erwähnten, zuckerfrei hergestellten Fuchsin-Gelatine zur Kontrolle gezüchteten Coli-Reinkulturen ebenso wie die Typhus-Reinkulturen Rötung und Fuchsinglanz zeigen müssen! Dies war aber, wie oben erwähnt, nicht der Fall. Aufgefallen ist mir übrigens, daß auch in mit Endo-Agar angelegten Gußplatten die tiefliegenden Typhuskolonien — bei einigen Stämmen bereits nach 20-stündiger, bei anderen erst nach längerer Bebrütung (bei 37 ° C) — deutliche Rosafärbung, allerdings keinen Fuchsinglanz aufweisen.

Die Zählung nehme ich bei den besprochenen Nährböden mit bloßem Auge in der Weise vor, daß ich die Keime im durchfallenden Lichte zähle und jede gezählte Kolonie mit einem gut angespitzten Farbstifte auf der Unterseite der Schale anstreiche; bei diesem Verfahren kann man auch sehr dicht besäte Kulturschalen (mit etwa 500 bis 600 Kolonien auf 1 Petri-Schale) rasch, bequem und sicher auszählen.

Herstellungsvorschriften.

	Für 1 l ist erforderlich bei		
Gelatinegehalt:	1-facher 10 Proz.	2-facher 20 Proz.	2½-facher 25 Proz.
I. Nährgelatine.			
1) Bereitung der Nährbouillon:			
Aq. dest. ccm:	900	800	750
Liebigs Fleischextrakt g:	10	20	25
Pepton Witte Rostock g:	10	20	25
Kochsalz g:	5	10	12,5
lösen im Dampftopf (Dauer etwa 1 Stunde), danach abkühlen.			
2) Bereitung der Nährgelatine:			
in die nicht filtrierte Nährbouillon hineingeben Rohgelatine g:	100	200	250

	Für 1 l ist erforderlich bei		
Gelatinegehalt:	1-facher 10 Proz.	2-facher 20 Proz.	2½-facher 25 Proz.
weichen lassen mindestens 1 Stunde lang; falls über Nacht. kühl stellen (Eisschrank),			
lösen im Dampftopf, Dauer bei 1-facher etwa 30 Min., bei 2- und 2½-facher etwa 45 Min.,			
neutralisieren mit Natronlauge[1] gegen Lackmus (Duplitestpapier Helfenberg) unter gründlichem Schütteln nach jedesmaligem NaOH-Zusatz,			
alkalisieren mit Kristallsoda in Substanz[1] nach Bedarf, z. B. mit g:	1	2	2,5
abkühlen auf etwa 40—50° C,			
klären mit Eieralbumin (gelöst in etwa 25 ccm lauwarmem Wasser) g:	1,5	3,0	3,75
zur guten Verteilung des Eiweißes wiederholt gründlich schütteln, danach			
kochen im Dampftopf etwa 30 Minuten lang,			
heiß filtrieren durch Papier in etwa 50—60° C warmem Raum [z. B. neben den geheizten Dampftöpfen unter dem Abzug oder im heißen Dampftopf — nach Löschen der Flammen — über Nacht: dabei läuft auch die hochprozentige Nährgelatine fast restlos durch.] Filter: ein angefeuchtetes, im Dampftopf sterilisiertes, großes Faltenfilter (etwa No. 331 der Firma Max Dreverhoff-Dresden) mit durch 2 kleinere glatte Filter (etwa No. 417 der gleichen Firma) verstärkter Spitze;			
steril abfüllen zu je 100 ccm in sterile Kölbchen[2] oder zu je 10 ccm in sterile Röhrchen,			
sterilisieren im Dampftopf etwa 20 Minuten, danach rasch abkühlen in kaltem Wasser.			
II. Fuchsin-Gelatine mit Milch-, Trauben- oder Rohrzucker bzw. Mannit.			
Herstellung bis einschließlich Alkalisieren wie bei Nährgelatine, danach Zusatz von Zucker (in Substanz oder konzentrierter, klarer Lösung)[3] g:	10	20	25
abkühlen, klären, filtrieren wie bei Nährgelatine,			
abfüllen in Kölbchen zu je 100 ccm[4],			
sterilisieren im Dampftopf 20 Minuten, aufbewahren.			
Zum Gebrauche verflüssigen und zusetzen:	auf je 100 ccm		
alkoholische, gesättigte, filtrierte Fuchsinlösung [nach Klinger[3]], ccm:	0,5	1,0	1,25
kristallisiertes, nicht verwittertes, reines Natriumsulfit (in Substanz oder konzentrierter, klarer Lösung) g:	0,25	0,5	0,625
lösen und sterilisieren im Dampftopf etwa 20 Minuten lang.			
Den fertigen Nährboden alsbald verbrauchen. (Wegen der Zersetzlichkeit des Natriumsulfits hält er sich nicht gut. Durch längeres Aufbewahren unbrauchbar [stark rot] gewordener Nährboden kann durch Zusatz von Natriumsulfit wieder aufgefrischt werden, doch ist es schwierig, die richtige Menge zu treffen, zumal bei zwei- oder zweieinhalbfacher Fuchsin-Gelatine.)			

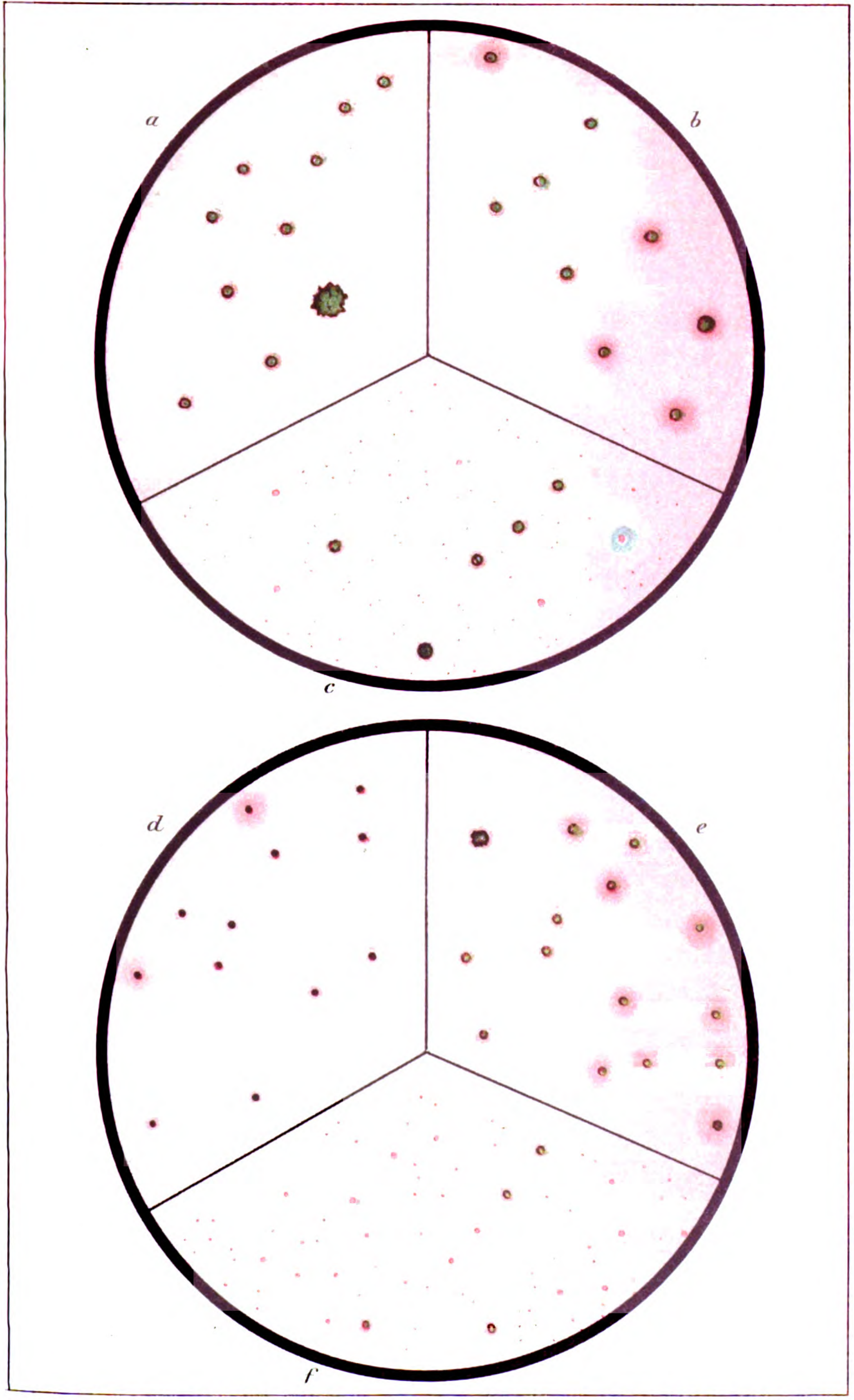
---

[1] Um den Nährboden nicht durch unnötig zugefügte Wassermengen im Gelatinegehalt zu erniedrigen, werden möglichst alle Stoffe in Substanz bzw. in konzentrierten Lösungen zugesetzt.

[2] In Kölbchen zu 100 ccm abgefüllt, hält die hochprozentige Nährgelatine sich gut, ohne wesentlich einzutrocknen.

[3] Klinger, s. Anm. 2, S. 470.

Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 79. *B. Bürger: Nährböden mit hohem Gelatinegehalt Taf. I.*

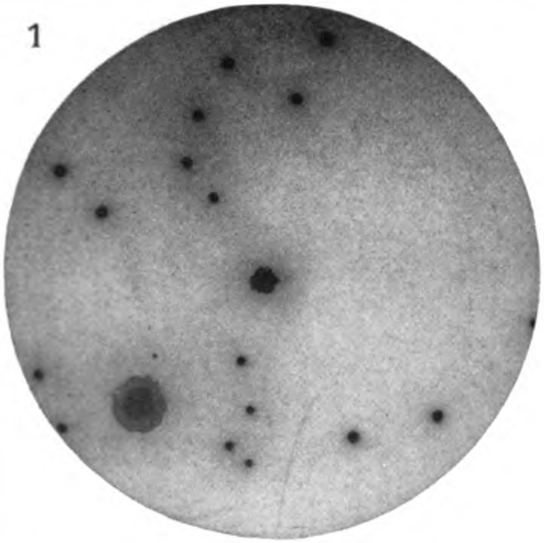


Verlag von Gustav Fischer in Jena.
Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena.

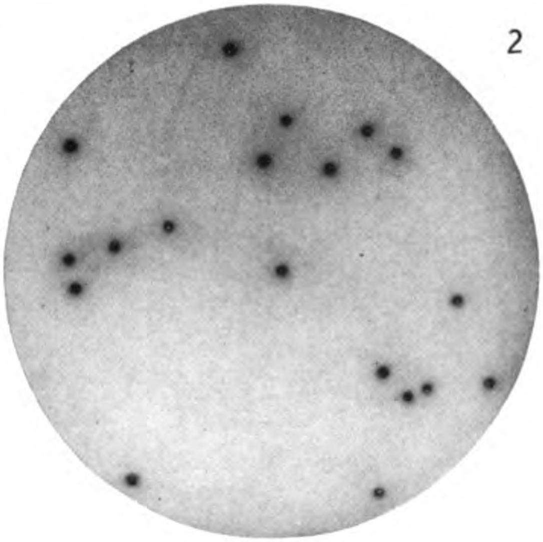
Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 79.

B. Bürger, *Nährböden mit hohem Gelatinegehalt.* **Taf. II.**

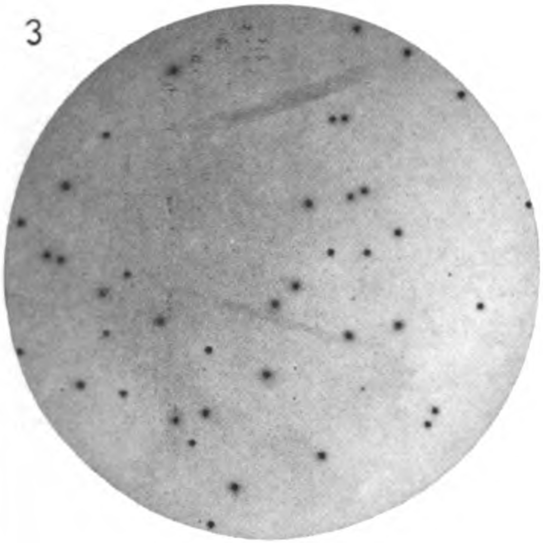
1



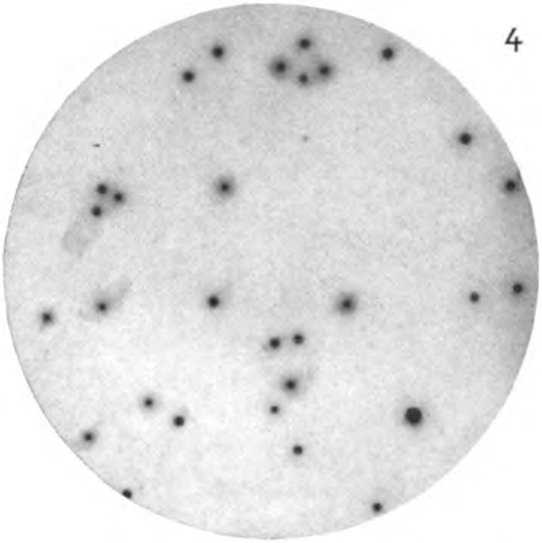
2



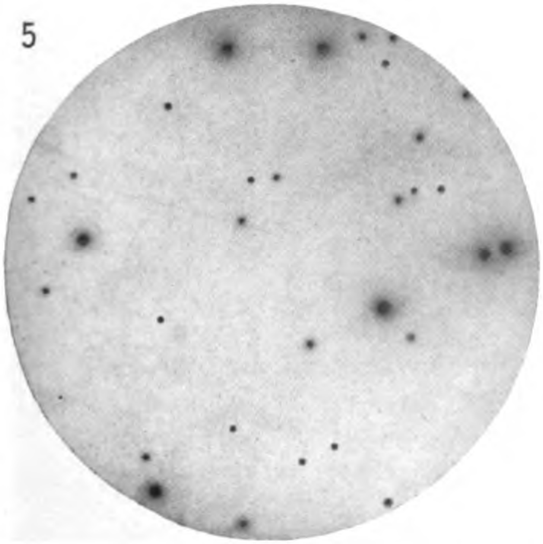
3



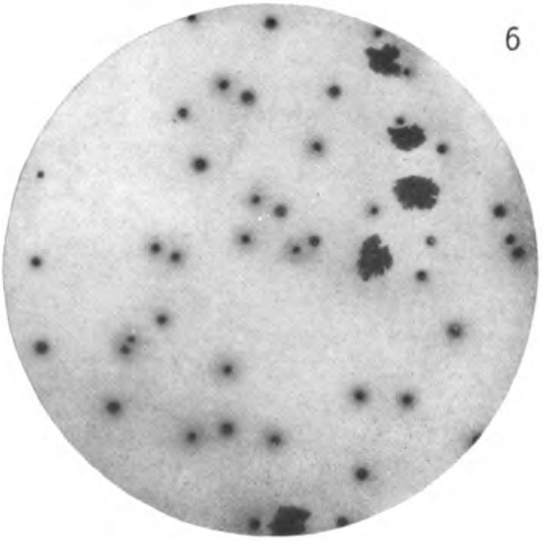
4



5



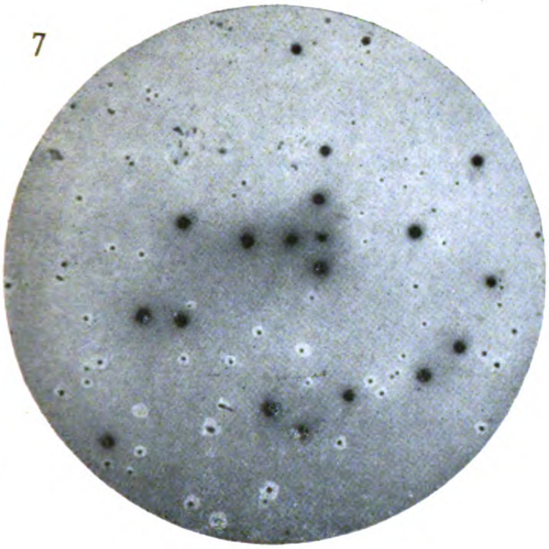
6



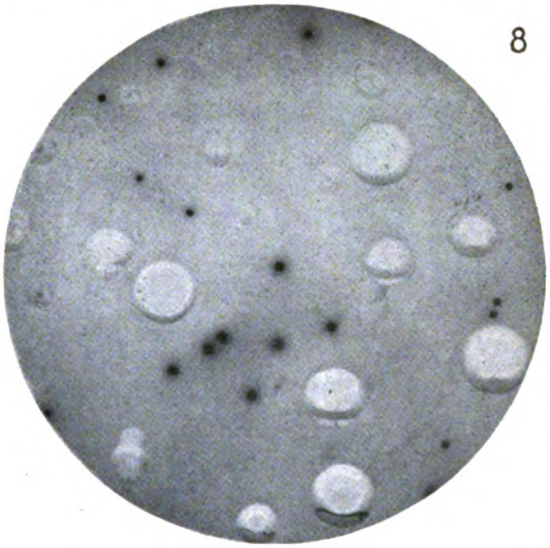
Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

B. Bürger, *Nährböden mit hohem Gelatinegehalt.* **Taf. III.**

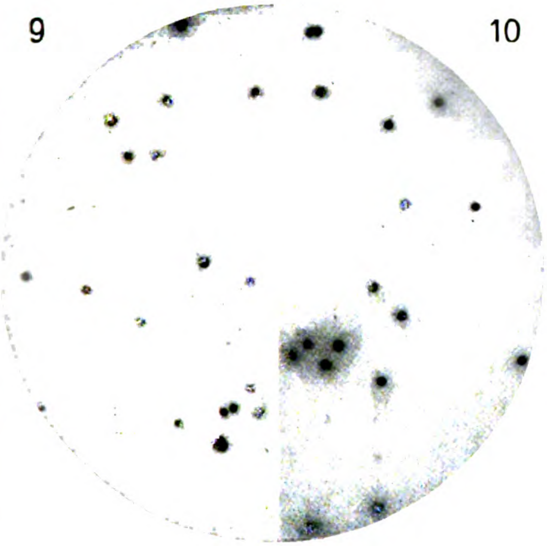
7



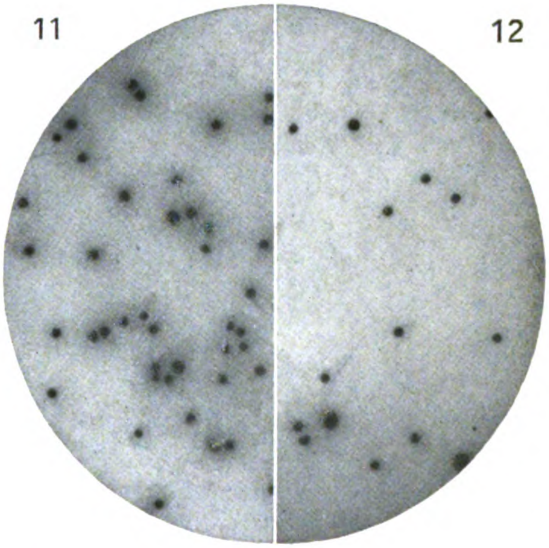
8



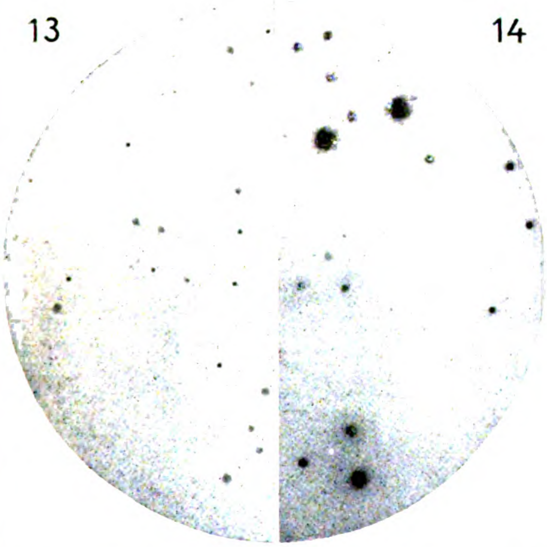
9 10



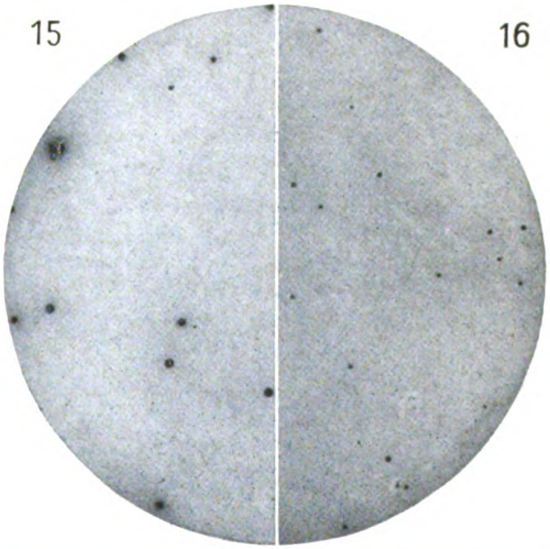
11 12



13 14



15 16



Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

	Für 1 l ist erforderlich bei		
Gelatinegehalt:	1-facher 10 Proz.	2-facher 20 Proz.	$2^1/_2$-facher 25 Proz.
Natürlich kann man auch zu (richtig alkalisierter!) Nährgelatine nachträglich Zucker (sowie Fuchsin und Natriumsulfit) zusetzen, am besten in konzentrierter[1], klarer Lösung.			
Die fertige Milchzucker-Fuchsin-Gelatine muß stets völlig klar sein; in etwas größerer Menge erscheint sie auch nach dem Erkalten stets rosafarbig, sie darf aber nicht rot sein. Im heißen Zustande ist der einfache Nährboden kräftig rosafarbig, der zwei- oder zweieinhalbfache kräftig rot gefärbt.			
Wichtig ist die Beschaffenheit der Rohgelatine; dieselbe sei von möglichst guter Qualität und enthalte vor allem möglichst wenig Säure.			
Der geeignetste Zusatz für die Züchtung von B. coli ist Milchzucker, der Erreger des Typhus, Paratyphus A und B und der Enteritis Gärtner ist Mannit oder Traubenzucker, der Erreger der Shiga-Kruse-, Flexner- und Y-Ruhr ist Traubenzucker, von Choleravibrionen ist Rohrzucker.			
Für B. coli eignen sich auch Mannit oder Traubenzucker gut, für Flexner-Ruhrbazillen Mannit.			

Versuche, fertig hergestellte neutrale Nährgelatine durch Zusatz von Merckschen Endo-Tabletten zu Milchzucker-Fuchsin-Gelatine umzuwandeln, fielen verschieden aus; zum Teil war die so hergestellte Fuchsin-Gelatine vorzüglich geeignet, zum Teil dagegen, auch bei Verwendung direkt von Merck frisch bezogener Tabletten, gar nicht. Ob dies auf wechselnder Zusammensetzung der Endo-Tabletten[2] oder auf anderen Ursachen beruht, vermag ich nicht zu entscheiden.

Hinsichtlich der Verwendung des $2^1/_2$-fachen Milchzucker-Fuchsin-Gelatine-Nährbodens für die quantitative Coli-Bestimmung in natürlich vorkommenden Wässern sind die guten Erfolg versprechenden Untersuchungen noch im Gange; ihre Veröffentlichung wird in Bälde folgen.

Erklärung der Tafeln.

Tafel I[3].

Fig. a. Bact. coli, Reinkultur in Milchzucker-Fuchsin-Gelatine: 1 Oberflächenkolonie mit gezacktem Rande, die übrigen tief gelegen.
„ b. Bact. coli, Reinkultur in Mannit-Fuchsin-Gelatine: tiefliegende Kolonien.
„ c. Bact. coli, gemischt mit Wasserkeimen, in Milchzucker-Fuchsin-Gelatine: 5 Coli-Kolonien, die übrigen Kolonien von Wasserkeimen, darunter 5 verflüssigende.
„ d. Typhus-Bazillen, Reinkultur in Milchzucker-Fuchsin-Gelatine: tiefliegende Kolonien. (Fuchsinglanz ist in der Aufsicht nicht erkennbar, war aber deutlich sichtbar von der Unterfläche, am Boden der Petri-Schale, vgl. S. 473, Anm. 1.)
„ e. Typhus-Bazillen, Reinkultur in Mannit-Fuchsin-Gelatine: 1 Oberflächenkolonie mit welligem begrenztem Rande, die übrigen tief gelegen.
„ f. Typhus-Bazillen, gemischt mit Wasserkeimen in Mannit-Fuchsin-Gelatine: 4 Typhuskolonien, die übrigen Kolonien von Wasserkeimen, darunter 4 verflüssigende.

Bei a—f sind die Kulturen sämtlich 4 Tage bei 22° C bebrütet. Größe: $^1/_1$ nat.

---

[1] s. Anm. 1, S. 478.

[2] Anmerkung bei der Korrektur: Auf Anfrage teilte die Firma Merck (wissenschaftliche Abteilung) mir mit, daß „die Zusammensetzung der Endo-Tabletten bisher stets dieselbe gewesen“ sei. Mir scheint der Fuchsingehalt der Tabletten für den vorliegenden Zweck zu niedrig gewesen zu sein, denn beim Zusetzen von etwas Fuchsinlösung — außer der Endo-Tablette — wurde die Fuchsinglanzbildung besser.

[3] Gezeichnet von Frau Dr. Bieling, Berlin-Wilmersdorf, Güntzelstr. 49.

Tafel II.

Fig. 1. **Bact. coli**, Reinkultur in Milchzucker-Fuchsin-Gelatine: 2 Oberflächenkolonien mit gezacktem Rande und zentralem Buckel, die übrigen mehr oder weniger tief gelegen; Hof deutlich.

„ 2. **Bact. coli**, Reinkultur in Mannit-Fuchsin-Gelatine: nur tiefgelegene Kolonien, Hof deutlich sichtbar.

„ 3. **Typhus**-Bazillen, Reinkultur in Milchzucker-Fuchsin-Gelatine: nur tiefgelegene Kolonien, Hof nur bei einem Teil deutlich sichtbar.

„ 4. **Typhus**-Bazillen, Reinkultur in Mannit-Fuchsin-Gelatine: 1 Oberflächenkolonie (rechts unten), die übrigen mehr oder weniger tief gelegen; Hof deutlich.

„ 5. **Coli**-+**Typhus**-Bazillen in Milchzucker-Fuchsin-Gelatine: 7 **Coli**-Kolonien (groß mit deutlichem Hof), die übrigen sind Typhuskolonien (viel kleiner, nur teilweise mit Hof), alle tief gelegen.

„ 6. **Coli**- + **Typhus**-Bazillen in Mannit-Fuchsin-Gelatine: 5 **Coli**-Oberflächenkolonien, gelappt mit gezacktem Rande und zentralem Buckel; von den übrigen — tiefgelegenen — die größeren **Coli**-, die kleineren **Typhus**-Kolonien, beide Arten mit deutlichem Hof.

Tafel III.

Fig. 7. **Coli**-Bazillen, gemischt mit Wasserkeimen, in Milchzucker-Fuchsin-Gelatine: es sind nur wenig Keimarten angegangen, die dunklen Kolonien mit meist deutlich erkennbarem Hof sind Kolonien von **Bact. coli**, die übrigen solche von meist verflüssigenden Wasserkeimen.

„ 8. **Typhus**-Bazillen gemischt mit Wasserkeimen in Mannit-Fuchsin-Gelatine: die dunklen Kolonien mit meist deutlich erkennbarem Hof sind Typhuskolonien, die übrigen Kolonien von meist verflüssigenden Wasserkeimen.

„ 9. **Paratyphus** A-Bazillen, Reinkultur in Mannit-Fuchsin-Gelatine: eine Oberflächenkolonie, die übrigen liegen mehr oder weniger tief; Hof mäßig kräftig.

„ 10. **Paratyphus** B-Bazillen, Reinkultur in Mannit-Fuchsin-Gelatine: nur tiefliegende Kolonien mit deutlich sichtbarem Hof.

„ 11. **Gärtner**sche Bazillen, Reinkultur in Mannit-Fuchsin-Gelatine: nur — mehr oder weniger — tiefliegende Kolonien; Hof überall deutlich sichtbar.

„ 12. **Ruhr**-Bazillen, Typus **Flexner**, Reinkultur in Mannit-Fuchsin-Gelatine: zwei Oberflächenkolonien (unten, etwas größer), die übrigen mehr oder weniger tiefliegend.

„ 13. **Ruhr**-Bazillen, Typus **Shiga-Kruse**, Reinkultur in Mannit-Fuchsin-Gelatine: Wachstum ziemlich dürftig, nirgends Hofbildung; die größeren, zarten, hellen Kolonien sind Oberflächenkolonien, die kleinen dunklen liegen tief.

„ 14. **Ruhr**-Bazillen, Typhus **Shiga-Kruse**, Reinkultur in Traubenzucker-Fuchsin-Gelatine: Wachstum kräftig, mit deutlichem Hof; 3 Oberflächenkolonien mit gezacktem Rande und zentralem Buckel, die übrigen mehr oder weniger tiefliegend.

„ 15. **Ruhr**-Bazillen, Typus Y, Reinkultur in Traubenzucker-Fuchsin-Gelatine: eine Oberflächenkolonie mit unregelmäßigem Rande, die übrigen mehr oder weniger tiefliegend; Hof überall deutlich sichtbar.

„ 16. **Cholera**-Vibrionen (Stamm Krakau 16), Reinkultur in Rohrzucker-Fuchsin-Gelatine: Wachstum mäßig kräftig, Verflüssigungszone nur gering, nirgends Hofbildung.

Die Kulturen wurden von mir in auffallendem und zugleich durchfallendem Lichte photographiert: etwa 20 cm vor einem weißen Hintergrunde stehend. Sämtliche Kulturen wurden bei 22° C bebrütet, und zwar No. 7, 10 und 11: 3 Tage lang, No. 1, 2, 4, 6 und 8: vier Tage lang, No. 3, 5, 9, 12, 13, 14, 15 und 16: 5 Tage lang.

Größe: etwa $^1/_1$ nat. (8,3/9,0).

Inhalt.

Bail, Oskar, und **Flaumenhaft, T.**, Veränderungen von Bakterien im Tierkörper. XIII. Versuche mit abgeschwächten Milzbrandbazillen im Meerschweinchenkörper, S. 425.

Bürger, Bernhard, Verwendung von Nährböden mit hohem Gelatinegehalt: ein neues Plattenverfahren zum zahlenmäßigen Nachweis vereinzelter spezifischer Keime in größeren Flüssigkeitsmengen, insbesondere bei Desinfektions- und Filterversuchen, S. 462.

Janicki, Constantin, Experimentelle Untersuchungen zur Entwickelung von **Dibothriocephalus latus** L. I. Ueber negative Versuche, junge Forellen, Hechte und Barsche direkt mit Flimmerembryonen zu infizieren, S. 443.

Landau, Hans, Untersuchungen über Gasbrand- und Rauschbrandbazillen, mit besonderer Berücksichtigung ihres serologischen Verhaltens und ihrer Veränderlichkeit, S. 417.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 79. Heft 8.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 79 enthaltenen Arbeiten.

Ata Bey, Arif, Goldberg, L., und **Omar Bey, Neschat,** Experimentelles über die Jerichobeule. b) Reinkultur des Parasiten der Beule. 25

Bahr, L., „Gärtner-Bazillen" und „Rattenschädlinge". (Zugleich eine Antwort an Dr. med. F. Ickert.) 20

Bail, Oskar, und **Flaumenhaft, T.,** Veränderungen von Bakterien im Tierkörper. XIII. Versuche mit abgeschwächten Milzbrandbazillen im Meerschweinchenkörper. 425

Boèr, W. v., Eine Darminfektion des Menschen, verursacht durch den Hühnercholerabacillus. 390

Börnstein, P., Ein Fall von epidemischer Genickstarre bei allgemeiner Miliartuberkulose. 172

Brünn, W., Beschleunigte Schizogonie bei Malaria tertiana und dadurch bedingte Umwandlung des Tertianafiebertypus in einen quotidianen. 84

Bürger, Bernhard, Verwendung von Nährböden mit hohem Gelatinegehalt: ein neues Plattenverfahren zum zahlenmäßigen Nachweis vereinzelter spezifischer Keime in größeren Flüssigkeitsmengen, insbesondere bei Desinfektions- und Filterversuchen. 462

Burckhardt, J. L., Die Begeißelung als differential-diagnostisches Merkmal in der Fluorescens-Gruppe. 321

Christiansen, M., Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe im Darm von gesunden Spankälbern und bei deren Darminfektionen. Vergleichende Untersuchungen. 196

Dietel, Gertrud, Tierkohle als Ersatz für Eiereiweiß zur Klärung von Bakteriennährböden. 183

Ditthorn, Fritz, und **Schultz, Werner,** Ein Anreicherungsverfahren für den Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum. 166

Eisler, M. v., Ein Beitrag zum Immunisierungsprozeß mit Bezug auf die Zustandsphase und Menge des Antigens. 291

Elkeles, G., Vergleichende Untersuchungen am Blute von Fleckfieberkranken. 260

Emmerich, Emil s. **Wagner, Gerhard.**

Flaumenhaft, T. s. **Bail, Oskar.**

Galli-Valerio, B., Beiträge zur Biologie und zur Bekämpfung der Läuse. 3. Mitt. 33

— Beobachtungen über Culiciden. 139

— Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik. 41

Gaßner, G., Hefewassernährböden und ihre Bewertung. 308

— Ueber das Wachstum von Coli-Bakterien auf Lackmusmannitagar. 303

Gildemeister, E., Weitere Mitteilungen über Variabilitätserscheinungen bei Bakterien, die bereits bei ihrer Isolierung aus dem Organismus zu beobachten sind. 49

Goldberg, L. s. **Ata Bey, Arif.**

Heyn, A., Das Bierastsche Petrolätherverfahren als Hilfsmittel zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbazillen im Stuhl. 185

Huntemüller, Kritische Studien über Morphologie und Züchtung von filtrierbaren Virusarten. 36

Janicki, Constantin, Experimentelle Untersuchungen zur Entwickelung von Dibothriocephalus latus L. I. Ueber negative Versuche, junge Forellen, Hechte und Barsche direkt mit Flimmerembryonen zu infizieren. 443

Johan, B., Ueber Typhusbazillen-Eiterungen. 340

Kalthoff, Max Heinrich, Ueber die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen und serologischen Typhusdiagnose. 145

Kasparek, Theodor, Ein einfacher Reagenzröhrchenverschluß ohne Wattestopfen. 318

Knorre, Felix, Zur Praxis und Theorie des Malachitgrünnährbodenverfahrens für den Nachweis von Typhus- und Paratyphus-Bakterien im Stuhl. Vergleich dieses Verfahrens mit dem Petrolätherverfahren. 114

Konrádi, Daniel, Die Vererbung der Immunität gegen Lyssa. 3. Mitt. 80

— Die Vererbung der Wut. 4. Mitt. 82

Koritschoner, Robert, Eine Verbesserung des Galleanreicherungsverfahrens zum Bazillennachweise im Blute bei typhösen Erkrankungen. 193

Lagerberg, Ivar, Eine neue Methode der Sporenfärbung nebst Bemerkung über

säurefeste Granula in sporenhaltigen Bakterien. 191
Landau, Hans, Untersuchungen über Gasbrand- und Rauschbrandbazillen, mit besonderer Berücksichtigung ihres serologischen Verhaltens und ihrer Veränderlichkeit. 417
Lange, Ludwig, und **Werz, E.,** Versuche über die Desinfektion von Eisenbahnwagen nach dem Schneidtschen Verfahren. 398
Lehmann, Ernst, Zur Kenntnis des Paratyphus A. II. Das Verhalten und die Variabilität des B. paratyphosus A in Mannitnutroselösung nach Barsiekow-Hetsch. 97
Lorey, Alexander, Ueber Influenzameningitis. 357
Modde, L. s. **Schürmann, W.**
Noll, H., Ueber Klärung der Fleischextraktgelatine. 143
Omar-Bey, Neschat s. **Ata-Bey, Arif.**
Penecke, Richard, Ueber eine Typhusepidemie bei Typhusschutzgeimpften, hervorgerufen durch Bacterium typhi mutabile. 249
Pfeiler, Willy, Ergebnisse der Untersuchung von 100 mittels der K.H.-Reaktion zum Zwecke der Feststellung syphilitischer Infektionen geprüften Serumproben. 62. 319
— und **Roepke, Erika,** Zweite Mitteilung über das Auftreten des Hühnertyphus und die Eigenschaften seines Erregers. 125
Piorkowski, Zur Differenzierung der Bakterien der Coli-Typhusgruppe mittels gefärbter Nährböden und der Harngelatine. 257
Popoff-Tcherkasky, Dora, Beitrag zur Kenntnis der Differentialcharaktere zwischen Pediculus capitis de Geer und Pediculus corporis de Geer. 29
Prell, Heinrich, Die Vielgestaltigkeit des Bacterium coli. 324
Reiter, Hans, Ueber die Spirochaete forans. 176
Riegel, W., Bemerkungen zu: v. Hövell, Ueber eine neue Gruppe typhusähnlicher, farbstoffbildender Bakterien (d. Zeitschr. I. Abt. Orig. Bd. 77. Heft 7), und Köhlisch, Gelbwachsende, den Bacillen der Typhus-Paratyphus-Gruppe ähnliche Bakterien (ebenda I. Abt. Orig. Bd. 78. Heft 3). 17
Roepke, Erika s. **Pfeiler, Willy.**
Rullmann, W., Weitere Angaben über die Unterscheidung der drei Genera Cladothrix, Streptothrix und Actinomyces. 383
Saul, E., Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. 20. Mitteilung. (Der Pflanzentumor (Smith). — Das Epithelioma contagiosum des Huhnes. — Das Kalkbeinepitheliom des Huhnes. — Das Molluscum contagiosum des Menschen.) 371
Schöppler, Hermann, Ueber eine pemphigusartige Erkrankung bei Lacerta agilis L., durch Gregarinen hervorgerufen. 27
Schürmann, W., und **Modde, L.,** Ueber die neue sero-chemische Reaktion bei Syphilis von Bruck. 362
Schultz, Werner s. **Ditthorn, Fritz.**
Schuscha, A. T., Ueber den Nachweis von Typhusbazillen in Wasser und Milch mittels Petroläthers. 161
— Ueber die Wirkung von Emetinum hydrochloricum auf Trypanosomen. 180
Seligmann, E., Zur Bakteriologie der Ruhr im Kriege. 71
Seyfarth, Carly, Tropische und subtropische Süßwasserblutegel als Parasiten im Menschen. 89
Wagner, Gerhard, und **Emmerich, Emil,** Experimenteller Paratyphus (A und B) durch Gallenblaseninfektion. 1
Werz, E. s. **Lange, Ludwig.**

II. Sachverzeichnis.

Acanthia lectularia, Widerstand gegenüber dem Fasten. 47
Agglutination des Bac. coli. 210. 230
— — — dysenteriae. 74
— der Gasbrandbazillen. 419
— — Rauschbrandbazillen. 419
Agglutininbildung. 294
Aktinomyces, Unterscheidung von Cladothrix und Streptothrix. 383
Aktinomykose, Irrtümer in der Diagnose. 43
Anguillula lumbrici, geographische Verbreitung. 42
Anopheles bifurcatus, Biologie. 139
— maculipennis, Biologie. 140
— — Verbreitung. 142
— nigripes, Biologie. 140
Antigenmenge und Immunisierungsprozeß. 291
Antiinsecta, Wirkung auf Läuse. 34
Arachisöl, Wirkung auf Läuse. 35
Arthropoden, Widerstand gegenüber dem Fasten. 47
Auswurf, Tuberkelbazillennachweis mittels Anreicherung. 166
Bacillus s. a. Bacterium.

Bacillus aërogenes im Darme von Spankälbern. 243
— alcaligenes, Wachstum auf Hefewassernährboden. 312
— anthracis, abgeschwächter, Veränderungen im Meerschweinchenkörper. 425
— —, säurefeste Granula in asporogenem. 192
— —, Kapselbildung. 433
— —, Sporenfärbung. 192
— avisepticus s. Hühnercholerabacillus.
— coli, Agglutination. 230
— — im Darme gesunder Kälber. 217
— — — — — — —, Gärungsvermögen. 224
— — — — — — —, Kulturelles. 222
— —, Darminfektion bei Kälbern durch denselben. 201
— —, Flatterform. 55
— — in Hypoderma bovis-Larven. 46
— —, Immunitätsversuche. 235
— —, kälberpathogener, Agglutination. 210
— —, kälberpathogener, Komplementbindung. 214
— —, kälberpathogener, Kulturelles. 203
— —, kälberpathogener, Morphologisches. 202
— —, kälberpathogener, Vergärungsvermögen. 204
— —, Kulturelles. 50
— —, Nabelentzündung bei Kälbern durch denselben. 201
— coli-Typhusgruppe, Differenzierung mittels gefärbter Nährböden und Harngelatine. 257
— coli, Variabilitätserscheinungen. 49
— —, Vielgestaltigkeit. 324
— —, Wachstum auf Hefewassernährboden. 312
— —, Wachstum auf Lackmusmannitagar. 303
— diphtheriae columbarum, Erreger des Epithelioma contagiosum. 378
— dysenteriae, Agglutination. 74
— —, Eigenschaften. 72
— —, Flatterform. 55
— —, antigenes Verhalten. 76
— —, Wachstum auf Hefewassernährboden. 312
— enteritidis Gärtner und Rattenschädlinge, Unterscheidung. 20
— faecalis alcaligenes, Geißeln. 322
— fluorescens-Gruppe, Begeißelung als differential-diagnostisches Merkmal in derselben. 321
—, Gasbrand-, Agglutination. 419
— —, Variation. 424
—, Hühnercholera-, Darminfektion des Menschen durch denselben. 390
— influenzae, Meningitis durch denselben. 357
— mesentericus, Sporenfärbung. 192
— paracoli im Darme von Spankälbern. 246
— paratyphi s. a. Paratyphus.
— — im Darme von Spankälbern. 246
Bacillus paratyphi A, Infektionsversuch. 5
— — B, Infektionsversuch. 8
— —, Koagulationsdauer. 105
— — B, Kulturelles. 3
— —, Nachweis im Stuhle durch Malachitgrün. 114
— —, Nachweis im Stuhle durch Petroläther. 122. 185
— — A, Verhalten und Variabilität in Mannitnutroselösung. 97
— —, Wachstum auf Hefewassernährboden. 312
— punctatus, Geißeln. 322
— putidus, Geißeln. 322
— pyocyaneus, Geißeln. 322
— Rauschbrand-, Agglutination. 419
— —, Variation. 424
— subtilis, Sporenfärbung. 192
— syncyaneus, Geißeln. 322
— tuberculosis, Anreicherung mit Eisenoxydchlorid. 166
— —, Nachweis im Auswurfe mittels Anreicherung. 166
— tumefaciens, Eigenschaften. 376
— —, Erreger von Pflanzentumoren. 375
— typhi, Eiterungen durch denselben. 340
— — -Gruppe, Differenzierung mittels gefärbter Nährböden und Harngelatine. 257
— —, Nachweis. 145
— —, Nachweis durch Galleanreicherungsverfahren. 193
— —, Nachweis in Milch mit Petroläther. 161
— —, Nachweis im Stuhle mit Malachitgrün. 114
— —, Nashweis im Stuhle mit Petroläther. 185
— —, Nachweis im Wasser mit Petroläther. 161
— —, Wachstum auf Hefewassernährboden. 312
— — gallinarum, Eigenschaften. 132
— — —, Pathogenität. 127
— — mutabilis, Ursache einer Typhusepidemie bei Typhusschutzgeimpften. 249
Bacterium s. a. Bacillus.
Bacterium multocidum in der Larve von Hypoderma bovis. 46
— ochraceum, Eigenschaften. 18
Bakterien, Cyklomorphose. 332
—, Flatterform der Kolonie. 54
—, Fluktuation. 327
—, Metamorphose. 326
—, Modifikation. 328
—, zahlenmäßiger Nachweis in größeren Flüssigkeitsmengen. 462
— -Nährböden, Klärung mittels Tierkohle. 183
—, Neomorphose. 338
—, Pleomorphose. 326
—, Sporenfärbung. 191
—, sporenhaltige, säurefeste Granula in denselben. 191
—, Transformation. 332

Bakterien, typhusähnliche, farbstoffbildende 17
— der Typhus-Coli-Gruppe im Darme gesunder Spankälber und bei deren Darminfektionen. 196
— — —-Paratyphusgruppe, gelbwachsende 17
—, Variation. 49
—, Veränderungen im Tierkörper. 425
—, Verbreitung durch Hypoderma bovis. 46
Barsche, Infektionsversuche mit Dibothriocephalus latus-Flimmerembryonen. 457
Barsiekow - Hetsch - Mannitnutroselösung, Verhalten und Variabilität des B. paratyphi in derselben. 97
Baumwollsamenöl, Wirkung auf Läuse. 35
Beule, Jericho- s. Jerichobeule.
Bienen, Hefen im Darme derselben. 43
Bierastsches Petrolätherverfahren zum Nachweise von Typhus- und Paratyphusbazillen im Stuhle. 185
Blut von Fleckfieberkranken, vergleichende Untersuchungen. 260
Blutegel, tropische und subtropische Süßwasser- als Parasiten im Menschen. 89
Brucksche sero-chemische Reaktion bei Syphilis. 362
Calliphora vomitoria, Wirt von Herpetomonas calliphorae. 41
Ceratophilus fasciatus, Widerstand gegenüber dem Fasten. 47
Cercaria armata, geographische Verbreitung. 42
— diplocotylea, geographische Verbreitung. 42
— ornata, geographische Verbreitung. 42
Cercarien, Färbung. 47
Chaetogaster limnaei, geographische Verbreitung. 43
Chorioptes auricularum, geographische Verbreitung. 43
Cladothrix, Unterscheidung von Streptothrix und Actinomyces. 383
Colzaöl, Wirkung auf Läuse. 35
Corvus frugilegus, Mikrofilarien in demselben. 43
Ctenocephalus serraticeps, Widerstand gegenüber dem Fasten. 47
Culex nemorosus, Biologie. 140
— —, Verbreitung. 142
— ornata, Biologie. 140
— —, Verbreitung. 142
Culiciden, Biologie. 139
—, Brutplätze. 141
—, Verbreitung. 142
Culicoides pulicaris, Biologie. 141
Cysticercus pisiformis, geographische Verbreitung. 42
Daphniden, Infektionsversuche mit Dibothriocephalus latus-Flimmerembryonen. 456
Darm, Bac. coli bei gesunden Kälbern. 217
—, Hefen in demselben bei Insekten. 43
—-Infektion bei Kälbern, durch Bac. coli verursacht. 201
Darminfektion bei Kälbern, durch Bac. aërogenes verursacht. 245
— des Menschen, durch den Hühnercholerabacillus verursacht. 390
Desinfektion von Eisenbahnwagen nach Schneidt. 398
—, zahlenmäßiger Nachweis von Keimen bei Desinfektionsversuchen. 462
Dibothriocephalus latus, Eier. 45
— —, Entwickelung. 443
— —, Flimmerembryonen - Infektionsversuche an Barschen. 457
— —, Flimmerembryonen - Infektionsversuche an Daphniden. 456
— —, Flimmerembryonen - Infektionsversuche an Forellen. 448
— —, Flimmerembryonen - Infektionsversuche an Hechten. 451
— —, Flimmerembryonen - Infektionsversuche an Quappen. 457
— —, Flimmerembryonen -Kultur. 444
Dippels Oel, Wirkung auf Läuse. 35
Docophorus auratus, geographische Verbreitung. 43
Echinococcus polymorphus, geographische Verbreitung. 42
Eidechse s. Lacerta agilis.
Eisenbahnwagendesinfektion nach Schneidt. 398
Eisenoxydchloridlösung zur Tuberkelbazillenanreicherung. 167
Eiterung, durch Bac. typhi verursacht. 340
Emetinum hydrochloricum, Wirkung auf Trypanosomen. 180
Enten, Hühnertyphusinfektionsversuch. 129
Epithelioma contagiosum - Erreger, Eigenschaften. 39
— — des Huhnes. 277
—, Kalkbein-, der Hühner, durch Sarcoptes mutans verursacht. 381
Esox s. Hecht.
Eurycercus lamellatus, Infektionsversuche mit Dibothriocephalus latus-Flimmerembryonen. 456
Faeces, Paratyphusbazillennachweis durch Malachitgrün. 114
—, Paratyphusbazillennachweis durch Petroläther. 122. 185
—, Typhusbazillennachweis durch Malachitgrün. 114
—, Typhusbazillennachweis durch Petroläther. 122. 185
Färbung von Cercarien. 47
— des Meningococcus meningitidis. 47
— der Sporen. 191
Farben, Wirkung auf Läuse. 34
Fasten, Widerstand von Arthropoden gegenüber demselben. 47
Filterversuche, zahlenmäßiger Nachweis von Keimen bei denselben. 462
Finne in der Leber von Mus silvaticus. 45
Flatterformen bei Bakterienkolonien. 54
Fleckfieber s. Typhus exanthematicus.

Fleischextraktgelatine, Klärung. 143
Fliegen, Hefen im Darme derselben. 43
— Milben auf denselben. 46
Flüssigkeit, Plattenverfahren zum zahlenmäßigen Nachweis von Keimen in derselben. 462
Forellen, Infektionsversuche mit Dibothriocephalus latus-Flimmerembryonen. 448
Formalin zur Desinfektion von Eisenbahnwagen (Schneidt). 398
Gärung durch Bac. coli. 204. 224
Galle-Anreicherungsverfahren zum Typhusbazillennachweise. 193
Gallenblaseninfektion und experimenteller Paratyphus. 1
Gasbrand, Immunisierung. 423
Gasbrandbacillus, Agglutination. 419
—, Variation. 424
Geißeln als differential-diagnostisches Merkmal in der Fluorescensgruppe. 321
Gelatine-Gehalt, hoher, bei Nährböden zum zahlenmäßigen Bazillennachweise. 462
Gelatine, Harn-, zur Differenzierung der Bakterien der Coli-Typhusgruppe. 257
Genickstarre s. Meningitis cerebrospinalis epidemica.
Geschwülste, Aetiologie und Biologie. 371
—, Pflanzen-, Aetiologie und Biologie. 375
Glycyphagen auf Musca domestica. 46
Glyzerin, Wirkung auf Läuse. 35
Granula, säurefeste, in sporenhaltigen Bakterien. 191
Gregarina polymorpha, Ursache einer pemphigusartigen Erkrankung der Eidechse. 29
Grus japonensis, Tuberkulose. 44
Habronema muscae, geograpische Verbreitung. 42
Hämagglutination + Komplementablenkung zur Syphilisdiagnose. 62. 319
Haematopinus pilifer, geographische Verbreitung. 43
— stenopsis, geographische Verbreitung. 43
— ventricosus, geographische Verbreitung. 43
— —, Widerstand gegenüber dem Fasten. 47
Haemomyson musculi auf Fliegen. 46
— —, geographische Verbreitung. 43
Hansenia im Darme von Fliegen. 43
Harngelatine zur Differenzierung der Bakterien der Coli-Typhusgruppe. 257
Hechte, Infektionsversuche mit Dibothriocephalus latus-Flimmerembryonen. 451
Hefe im Darme von Insekten. 43
Hefewassernährböden, Bewertung. 308
Herpetomonas calliphorae, geographische Verbreitung. 41
— polleniae n. sp., Eigenschaften. 41
— pyrrhocoris, geographische Verbreitung. 41
— scatophagae, geographische Verbreitung. 41
Hühner-Cholerabacillus, Darminfektion des Menschen durch denselben. 390
Hühner, Epithelioma contagiosum. 377
—, Kalkbeinepitheliome derselben, durch Sarcoptes mutans verursacht. 381
— -Typhus, Auftreten und Erreger. 125
Hunde, Hühnertyphusinfektionsversuch. 130
Hund, Wirt von Haematopinus pilifer. 43
—, Wirt von Trichodectes latus. 43
Hypoderma bovis-Larven als Verbreiter von Bakterien. 46
Jericho-Beule, Parasiten, Reinkultur und Morphologie. 25
Immunisierung gegen Bac. coli. 235
— gegen Gasbrand. 423
— gegen Rauschbrand. 423
— gegen Tetanus. 293
— gegen Typhus abdominalis, Typhusepidemie durch Bact. typhi mutabile bei Schutzgeimpften. 249
—, Zustandsphase und Antigenmenge. 291
Immunität gegen Wut, Vererbung. 80
Influenza-Meningitis. 357
Insekten, Hefen im Darme derselben. 43
K. H.-Reaktion s. Komplementablenkung + Hämagglutination-Reaktion.
Kadeöl, Wirkung auf Läuse. 35
Kälber, Bac. coli im Darme derselben. 217
—, Darminfektion, durch Bac. coli verursacht. 201
—, Darminfektion, durch Bac. aërogenes verursacht. 245
—, Nabelentzündung, durch Bac. coli verursacht. 201
—, Span-, Bakterien der Typhus-Coligruppe im Darme derselben. 196
Kalkbeinepitheliome der Hühner durch Sarcoptes mutans verursacht. 381
Kaninchen, Hühnertyphusinfektionsversuch. 129
—, Psoroptesräude. 46
—, Wirt von Haematopinus ventricosus. 43
Karbolsäure, Wirkung auf Läuse. 35
Karzinom, Aetiologie und Biologie. 371
Katzen, Hühnertyphusinfektionsversuch. 130
—, Wirte von Chorioptes auricularum. 43
Klauenöl, Wirkung auf Läuse. 35
Kohle, Tier-, zur Klärung von Bakteriennährböden. 183
Komplementablenkung + Hämagglutination zur Syphilisdiagnose. 62. 319
Komplementbindung mit Bac. coli (kälberpathogenem). 214
Krieg, Bakteriologie der Ruhr im —. 71
Lacerta agilis, pemphigusartige Erkrankung, durch Gregarinen verursacht. 27
Lackmusmannitagar, Wachstum des Bac. coli auf demselben. 303
Laelaps agilis, geographische Verbreitung. 43
Läuse s. a. Pediculus.
—, Bekämpfung. 33
—, Biologie. 33
—, Wirkung von Antiinsecta. 34

Läuse, Wirkung von Arachisöl. 35
—, Wirkung von Baumwollsamenöl. 35
—, Wirkung von Colzaöl. 35
—, Wirkung von Dippels Oel. 35
—, Wirkung von Glyzerin. 35
—, Wirkung von Kadeöl. 35
—, Wirkung von Karbolsäure. 35
—, Wirkung von Klauenöl. 35
—, Wirkung von Lebertran. 35
—, Wirkung von Lysol. 35
—, Wirkung von Mohnöl. 35
—, Wirkung von Nikotin. 34
—, Wirkung von Nitrobenzol. 35
—, Wirkung von Nußöl. 35
—, Wirkung von Olivenöl. 35
—, Wirkung von Paraffinöl. 35
—, Wirkung von Petroleum. 35
—, Wirkung von Pfeffer. 34
—, Wirkung von Rizinusöl. 35
—, Wirkung von Saprol. 35
—, Wirkung von Schieferöl. 35
—, Wirkung von Sesamöl. 35
—, Wirkung von Sonnenblumenöl. 35
—, Wirkung von Sulfur praecipitatum. 34
—, Wirkung von Vaselinöl. 35
Leber, Finnen in derselben bei Mus silvaticus. 45
Lebertran, Wirkung auf Läuse. 35
Leptothrix-Drusen beim Menschen, Pathogenität. 43
Limnatis nilotica, Parasit des Menschen. 90
Lota vulgaris s. Quappe.
Lumbricus terrestris, Wirt von Anguillula lumbrici. 42
— —, Wirt von Monocystis lumbrici. 41
Lysol, Wirkung auf Läuse. 35
Mäuse, Hühnertyphusinfektionsversuch. 129
Malachitgrünnährboden - Verfahren zum Nachweise von Typhus- und Paratyphusbakterien im Stuhle. 114
Malaria, beschleunigte Schizogonie bei M. tertiana. 84
—, Umwandlung des Tertianfiebertypus in einen quotidianen. 84
Mannitnutroselösung nach Barsiekow-Hetsch, Verhalten und Variabilität des Bac. paratyphi in derselben. 97
Maul- und Klauenseuche-Virus, Morphologie und Züchtung. 36
Meerschweinchen, Hühnertyphusinfektionsversuch. 129
Meningitis cerebrospinalis epidemica bei Miliartuberkulose. 172
—, Influenza-. 357
Meningococcus meningitidis, Färbung und Konservierung. 47
Micrococcus pyogenes in der Larve von Hypoderma bovis. 46
Microsoma vaccinae, Eigenschaften. 36
Mikrofilarien im Blute von Corvus frugilegus. 43
Mikroskopiertischchen. 48
Mikroskopische Arbeiten, Tischchen für dieselben auf dem Lande. 47
Milben auf Fliegen. 46
Milch, Typhusbazillennachweis mit Petroläther in derselben. 161
Miliartuberkulose, epidemische Genickstarre bei derselben. 172
Mohnöl, Wirkung auf Läuse. 35
Molluscum contagiosum, Aetiologie. 379
— — -Erreger, Eigenschaften. 39
Monocystis lumbrici, geographische Verbreitung. 41
Mus musculus, Wirt von Protospirura muris. 42
— sylvaticus, Wirt von Haemomyson musculi. 43
— —, Wirt von Laelaps agilis. 43
Musca domestica, Glycyphagen auf derselben. 46
— —, Hansenia im Darme derselben. 43
— —, Tyroglyphina - Nymphen auf derselben. 46
Muscidae, Biologie. 46
Mycobacterium smegmatis var. caviae, Eigenschaften. 45
Nabelentzündung bei Kälbern, durch Bac. coli verursacht. 201
Nährböden, Bakterien-, Klärung mittels Tierkohle. 183
— mit hohem Gelatinegehalt. 462
Negrische Körperchen bei Wut. 82
Nikotin, Wirkung auf Läuse. 35
Nitrobenzol, Wirkung auf Läuse. 35
Nußöl, Wirkung auf Läuse. 35
Olivenöl, Wirkung auf Läuse. 35
Paraffinöl, Wirkung auf Läuse. 35
Parasitologische Untersuchungen und Technik. 41
Paratyphus s. a. Bacillus paratyphi.
Paratyphus A. 97
—, experimenteller, durch Gallenblaseninfektion. 1
Pediculus s. a. Läuse.
— capitis de Geer, Differentialdiagnose von P. corporis d. G. 29
— cervicalis, Bekämpfung. 33
— —, Biologie. 33
— —, Wirkung von Farben. 34
— corporis de Geer, Differentialdiagnose von P. capitis d. G. 29
Pemphigusartige Erkrankung bei Lacerta agilis, durch Gregarinen verursacht. 27
Perca fluviatilis s. Barsch.
Petroläther zum Nachweise von Paratyphusbazillen im Stuhle. 122. 185
— — — — Typhusbazillen in Milch. 161
— — — — — im Stuhle. 122. 185
— — — — — in Wasser. 161
Petroleum, Wirkung auf Läuse. 35
Pfeffer, Wirkung auf Läuse. 34
Pflanzentumoren (Smith), Aetiologie und Biologie. 375
Physa hypnorum, Wirt von Cercaria armata. 42
— —, Wirt von Chaetogaster limnaei. 43
Planorbis marginatus, Wirt von Cercara diplocotylea. 42
— —, Wirt von Chaetogaster limnaei. 43

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Pneumocystis carinii, geographische Verbreitung. 41
Pollenia rudis, Biologie. 46
— —, Wirt von Herpetomonas polleniae. 41
Protospirura muris, geographische Verbreitung. 42
Psoroptes communis var. cuniculi, Pathogenität. 46
— -Räude bei Kaninchen. 46
Pulex irritans, Widerstand gegenüber dem Fasten. 47
Pyrrhocoris apterus, Wirt von Herpetomonas pyrrhocoris. 41
Quappen, Infektionsversuche mit Dibothriocephalus latus-Flimmerembryonen. 457
Ratten-Schädlinge und Gärtnerbazillen, Unterscheidung. 20
Ratten-Tuberkulose. 44
Ratten, Wirt von Pneumocystis carinii. 41
Rauschbrand-Bacillus, Agglutination. 419
— —, Variation. 424
—, Immunisierung. 423
Reagenzröhrchenverschluß ohne Wattestopfen. 318
Rizinusöl, Wirkung auf Läuse. 35
Ruhr, Bakteriologie der — im Kriege. 71
Saprol, Wirkung auf Läuse. 35
Sarcophaga melanura, Wirt von Habronema muscae. 42
Sarcoptes mutans, Erreger der Kalkbeinepitheliome der Hühner. 381
Scatophaga stercoraria, Wirt von Hansenia. 43
— —, Wirt von Herpetomonas calliphorae. 41
Schieferöl, Wirkung auf Läuse. 35
Schlange, Zange für dieselbe. 48
Schneidtsches Verfahren zur Eisenbahnwagendesinfektion. 398
Schwefel s. Sulfur.
Serumdiagnose der Syphilis. 62. 319. 362
— des Typhus abdominalis, Leistungsfähigkeit. 145
Sesamöl, Wirkung auf Läuse. 35
Smegma, Mycobacterium smegmatis var. caviae in demselben bei Meerschweinchen. 45
Sonnenblumenöl, Wirkung auf Läuse. 35
Spankälber, Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe im Darme derselben. 196
Spirochaete forans, Eigenschaften. 176
Spirura strumosa, geographische Verbreitung. 43
Sporen, Färbung. 191
Sputum s. Auswurf.
Sternsche Reaktion zur Syphilisdiagnose. 66
Stomoxys calcitrans, Biologie. 46
Streptothrix, Unterscheidung von Cladothrix und Actinomyces. 383
Stuhl s. Faeces.
Süßwasserblutegel, tropische und subtropische, als Parasiten im Menschen. 89
Sulfur praecipitatum, Wirkung auf Läuse. 34
Syphilis, Brucksche sero-chemische Reaktion. 362
—, Diagnose mittels der K. H.-Reaktion. 62. 319
—, Diagnose nach Stern. 66
—, Diagnose nach Wassermann. 66
Taenia serrata, geographische Verbreitung. 42
Talpa europaea, Wirt von Spirura strumosa. 43
Tauben, Hühnertyphusinfektionsversuch. 128
Temperatur, Wirkung auf Bac. anthracis. 425
Tetanus, Immunisierung. 293
Tierkohle zur Klärung von Bakteriennährböden. 183
Tischchen für mikroskopische Arbeiten auf dem Lande. 47
Trichodectes canis, Widerstand gegenüber dem Fasten. 47
— climax, geographische Verbreitung. 43
— latus, geographische Verbreitung. 43
Trombidium holosericeum, Biologie. 46
Trutta s. Forelle.
Trypanosoma equiperdum, Wirkung von Emetinum hydrochloricum. 180
Trypanosomiasis, Behandlung mit Emetin. 181
Tuberkulose bei Grus japonensis. 44
—, Miliar-, epidemische Genickstarre bei derselben. 172
— der Ratten. 44
Typhus abdominalis, durch Bact. typhi mutabile verursacht. 249
— —, Diagnose, bakteriol. 145. 193
— —, bakteriologische und serologische Diagnose, Leistungsfähigkeit. 145
— —, Immunisierung, Typhusepidemie durch Bact. typhi mutabile bei Schutzgeimpften. 249
— exanthematicus, Blutbild. 260
— —, Differentialdiagnose mittels Blutbildes. 282
—, Hühner-, Auftreten und Erreger. 125
Tyroglyphina - Nymphen auf Musca domestica. 46
Variation bei Bact. coli. 49
— — Bakterien. 49
Variola-Vaccine, Morphologie und Züchtung. 36
Vaselinöl, Wirkung auf Läuse. 35
Vererbung der Immunität gegen Wut. 80
— — Wut. 82
Virus, filtrierbares, Morphologie und Züchtung. 36
Wärme, Wirkung auf Bac. anthracis. 425
Wagen, Eisenbahn-, Desinfektion nach Schneidt. 398
Wasser, Typhusbazillennachweis mit Petroläther in demselben. 161
Wassermannsche Reaktion zur Syphilisdiagnose. 66
Widalsche Reaktion bei Typhus abdominalis, Leistungsfähigkeit. 145

Wut, Immunitätsvererbung. 80
—, Negrische Körperchen bei derselben. 82
—, Vererbung. 82
—-Virus, Uebergang auf den Foetus. 82
Zange für Schlangen. 48
Ziege, Wirt von Haematopinus stenopsis. 43
Zygosaccharomyces im Darme der Bienen. 43

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Abszeß der Dura, durch den Bac. typhi verursacht. 343. 345
Aktinomyces hominis. (Taf.) 390
— odorifer. (Taf.) 390
Anopheles nigripes in Baumhöhlungen. 140
Bacillus avisepticus s. Hühnercholera-Bacillus.
— anthracis, Sporenfärbung. (Taf.) 192
— coli, Flatterform der Kolonie. 55—60
— —, Kolonie. 50—52
— —, Mischkultur. (Taf. II, III.) 480
— —, Reinkultur. (Taf. I, II.) 480
— diphtheriae columbarum, Ausstrichpräparat. 379
— dysenteriae, Flatterform der Kolonie. 55. 57. 59. 60
— —, Reinkultur. (Taf. III.) 480
— enteritidis Gärtner, Reinkultur. (Taf. III.) 480
— mesentericus, Sporenfärbung. (Taf.) 192
— paratyphi, Kolonie. 3
— —, Reinkultur. (Taf. III.) 480
— subtilis, Sporenfärbung. (Taf.) 192
— tumefaciens, Ausstrichpräparat. 376
— —, Pflanzengeschwülste durch denselben. 374. 375
— typhi, Eiterung durch denselben. 341. 343. 345—347
— —, Mischkultur. (Taf. II, III.) 480
— —, Reinkultur. (Taf. I, II.) 480
Cladothrix dichotoma. (Taf.) 390
Culex ornata in Baumhöhlungen. 140
Culiciden in Baumhöhlungen. 140
Darm-Infektion des Menschen, durch Hühnercholerabazillen verursacht, Präparate. 392. 393. 397 (Taf.)
Desinfektion von Eisenbahnwagen. 401. 404. 405
Dibothriocephalus latus, Eier. 45
Dura-Abszeß, durch den Bac. typhi verursacht. 343. 345
Eisenbahnwagen, Desinfektion. 401. 404. 405
Eiterung, durch Bac. typhi verursacht. 341. 343. 345—347
Epithelioma contagiosum des Huhnes. 376—379
—, Kalkbein-, des Huhnes. 380—382
Geschwülste, Pflanzen-, durch Bac. tumefaciens verursacht. 374. 375
Herpetomonas polleniae n. sp. 42
Hühner-Cholera-Bacillus, Darminfektion des Menschen durch denselben, Präparate. 392. 393. 397 (Taf.)
Hühner, Epithelioma contagiosum. 376—379
—, Kalkbeinepitheliom. 380—382
Jerichobeule, Parasiten. 26
Kalkbeinepitheliom des Huhnes. 380—382
Lacerta agilis, pemphigusartige Erkrankung. 28
Leber-Entzündung, durch Bac. typhi verursacht. 346. 347
Limnatis nilotica. (Taf.) 90
Malaria tertiana, beschleunigte Schizogonie. (Taf.) 88
Maul- und Klauenseuche, Körperchen von Aphthenmaterial. 37
Meningitis typhosa. 341
Mikroskopiertischchen. 48
Mohrrüben-Geschwülste, durch Bac. tumefaciens verursacht. 374. 375
Molluscum contagiosum des Menschen. 379. 380
Paratyphus, experimentelle Infektion, Gallenblase. (Taf. I, II.) 15. 16
—, experimentelle Infektion, Injektion von Keimen in die Gallenblase. 5
—, experimentelle Infektion, Leber. (Taf. I, II.) 15. 16
Pediculus capitis, Fühler. 31
— vestimenti, Fühler. 31
Pemphigusartige Erkrankung bei Lacerta agilis. 28
Pflanzen-Geschwülste, durch Bac. tumefaciens verursacht. 374. 375
Reagenzröhrchenverschluß ohne Wattestopfen. 318
Sarcoptes mutans, Ursache der Kalkbeinepitheliome des Huhnes. 381. 382
Schlangen-Zange. 48
Serumbouillon, Körperchen aus derselben. 37
Spirochaete forans. (Taf.) 180
Spirura strumosa im Magen des Maulwurfes. 42
Streptothrix fusca. (Taf.) 390
Tisch für mikroskopische Arbeiten auf dem Lande. 48
Vibrio cholerae, Reinkultur. (Taf. III.) 480
Zange für Schlangen. 48

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

58011

ST.